



**PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp. TERHADAP JUMLAH
LIMFOSIT TIKUS WISTAR DENGAN DIABETES ALOKSAN**

**LAPORAN AKHIR PENELITIAN
KARYA TULIS ILMIAH**

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran

Disusun oleh :

WINDY OLIVIANY
G2A005193

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2009**

HALAMAN PERSETUJUAN

Telah disetujui oleh dosen pembimbing, laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah atas nama mahasiswa :

Nama : Windy Oliviany

NIM : G2A005193

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Diponegoro

Bagian : Ilmu Biokimia

Judul : PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp.
TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT TIKUS WISTAR
DENGAN DIABETES ALOKSAN

Pembimbing : dr.P. Setia Rahardja Komala

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Diponegoro.

Semarang, 25 Agustus 2009

Pembimbing

dr. P.Setia Rahardja Komala

NIP.130 516 877

HALAMAN PENGESAHAN

Laporan Akhir Penelitian

PENGARUH DIET RUMPUT LAUT *Eucheuma* sp. TERHADAP JUMLAH LIMFOSIT TIKUS WISTAR DENGAN DIABETES ALOKSAN

yang disusun oleh:
Windy Oliviany
G2A 005 193

telah dipertahankan di hadapan Tim Penguji Laporan Akhir Penelitian KTI
Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
pada tanggal 19 Agustus 2009 dan telah diperbaiki sesuai dengan saran-saran
yang diberikan

TIM PENGUJI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Ketua Penguji,

Penguji,

dr. Banundari Rachmawati, SpPK(K)
NIP. 131 803 124

dr. Kusmiyati, D.K, M.Kes
NIP. 131 252 961

Pembimbing,

dr. P. Setia Rahardja Komala
NIP. 130 516 877

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya, laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah yang berjudul “Pengaruh Diet Rumput Laut *Eucheuma* sp. terhadap Jumlah Limfosit Tikus Wistar dengan Diabetes Aloksan” ini dapat terselesaikan.

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada kepada dr. Setia Rahardja Komala selaku dosen pembimbing yang telah memberikan arahan dan bimbingan dari awal penelitian hingga paripurna, dr. Banundari Rachmawati, Sp.PK (K) yang telah memberikan bimbingan dalam perbaikan karya tulis ilmiah ini serta dr. Kusmiyati selaku dosen penguji yang turut memberikan masukan untuk perbaikan laporan akhir penelitian karya tulis ilmiah ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun, sangat penulis harapkan.

Semoga karya tulis ini dapat bermanfaat dan menambah pengetahuan dalam ilmu kedokteran.

Semarang, 14 Agustus 2009

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman Judul	i
Halaman Persetujuan	ii
Halaman Pengesahan	iii
Kata Pengantar.....	iv
Daftar Isi	v
Daftar Gambar	vii
Daftar Tabel	viii
Daftar Lampiran	ix
Abstrac.....	x
Abstrak.....	xi

BAB 1 PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang	1
1.2. Perumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	
1.3.1. Tujuan Umum	3
1.3.2. Tujuan Khusus	4
1.4. Manfaat Penelitian	4

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1. RUMPUT LAUT (<i>Eucheuma</i> sp.)	
2.1.1. Klasifikasi.....	5
2.1.2. Kandungan dan Manfaat	6
2.1.3. Pengaruh <i>Eucheuma</i> sp.terhadap Kadar Gula Darah	8
2.1.4. <i>Eucheuma</i> sp.sebagai Antioksidan	10
2.2. Diabetes Mellitus	
2.2.1 Definisi	10
2.2.2 Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 1	11
2.3. Radikal Bebas	
2.3.1 Definisi	12
2.3.2 Sifat Radikal Bebas	12
2.3.3 Tipe Radikal Bebas dalam Tubuh	13
2.3.4 Reaksi Perusakan Oleh Radikal Bebas	13
2.3.4.1 Peroksidasi Lemak	13
2.3.4.2 Kerusakan Protein	14
2.3.4.3 Kerusakan DNA	14
2.3.5 Komplikasi Hiperglikemi dan Radikal Bebas	14
2.4. Limfosit	
2.4.1 Kategori Limfosit	21
2.4.2 Limfopenia	24
2.4.3 Pengaruh Diabetes Aloksan terhadap Limfosit	24
2.5. Pengaruh <i>Eucheuma</i> sp. terhadap Jumlah Limfosit pada Diabetes Aloksan	25

2.6. KERANGKA TEORI	29
2.7. KERANGKA KONSEP	30
2.8. HIPOTESIS	31
BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN	
3.1. RANCANGAN PENELITIAN	32
3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan	32
3.1.2. Waktu dan Tempat Penelitian	32
3.1.3. Jenis Penelitian	32
3.2. Populasi dan Sampel	33
3.2.1. Populasi	33
3.2.2. Sampel	33
3.2.2.1. Cara Pengambilan Sampel	33
3.2.2.2. Besar Sampel	34
3.3. Data	34
3.3.1. Variabel Penelitian	34
3.3.1.1. Variabel Bebas	34
3.3.1.2. Variabel Tergantung	34
3.3.2. Data yang Dikumpulkan	34
3.4. Instrumen	34
3.4.1. Alat	34
3.4.2. Bahan	35
3.5. Cara Pengumpulan Data	35
3.6. Alur Penelitian	38
3.7. Definisi Operasional	39
3.7.1. Induksi Diabetik pada Sampel	39
3.7.2. Diet Rumput Laut	39
3.7.3. Jumlah Limfosit	40
3.8. Cara Analisis Data	40
3.8.1. Cara Pengolahan Data	40
3.8.2. Analisis Data	40
BAB 4 HASIL PENELITIAN	41
BAB 5 PEMBAHASAN	44
BAB 6 PENUTUP	
6.1. Kesimpulan	49
6.2. Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 : <i>Euchema</i> sp.	6
Gambar 2 : Rumus bangun dari karagenan	9
Gambar 3 : Struktur kimia radikal bebas	12
Gambar 4 : Proses Glikasi dan Lanjutan Degradasi Produk Glikasi	18
Gambar 5 : Reaksi Maillard	19
Gambar 6 : Boxplot rerata jumlah limfosit.....	20

DAFTAR TABEL

Tabel 1 : Rerata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah limfosit (dalam $10^3/\mu\text{L}$).....	41
Tabel 2 : Uji Post Hoc untuk jumlah limfosit antar kelompok perlakuan.....	43

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 : Data Dasar Pemeriksaan Jumlah Limfosit

Lampiran 2 : Output SPSS

The Effect of Eucheuma sp. Seaweeds Diet to Lymphocyte Counts of Male Wistar Rats with Alloxant Diabetic

Windy Oliviany^{*)}, Setia Rahardja Komala^{**)}

Abstract

Background : Cronic hyperglycemia in diabetes is linked to long period damage as result of increasing free radicals, iclude the damage of lymphocytes. Carrageenan from Eucheuma sp. Seaweeds extract can prevent hyperglycemia so that the increasing of free radical can be avoided. In addtion, vitamin C, vitamin E, β -caroten, and Selenium which are as component of Eucheuma sp. can role as strong antioxidant. This study aimed to investigate the effect of Eucheuma sp. seaweeds diet to lymphocytes counts of Male Wistar Rats with alloxant diabetic.

Method : Experimental Study with post test only control group design was conducted in wistar rats in Biochemistry laboratory of Medical Faculty of Diponegoro University, Semarang. Eucheuma sp. were collected from Karimunjawa islands, Jepara, Central Java. Thirty five male wistar rats were divided randomly into five groups. Negative control group (KN) was treated with no diabetes induction and only with standard diet; Positive control group (KP) was treated with standard diet and injected with alloxant intraperitoeal 125 mg/kgBW to make diabetes; P1 was treated with induction of diabetes (with alloxant intraperitoneal injection 125 mg/kgBW) and with dosage 4 gr/kgBW/day Eucheuma sp. diet; P2 was treated with induction of diabetes and with dosage 8 gr/kgBW/day Eucheuma sp. diet; P3 was treated with induction of diabetes and with dosage 12 gr/kgBW/day Eucheuma sp. diet. This study is conducted for 70 days. All rats used in the experiment were adapted with standard diet for 7 days and treatments were given, 63 days toward. At 70th day, the rats were terminated for counting the counts of lymphocytes. The rats which fulfilled in criteria inclusion until the end of treatment were 25 rats.

Results : The mean of lymphocyte counts (in $10^3/\mu\text{L}$) of five groups are : KN = 6.64 ± 1.32 ; KP = 2.38 ± 0.56 ; P1 = 4.38 ± 2.15 ; P2 = 3.42 ± 0.88 ; P3 = 4.62 ± 1.59 . the highest lymphocytes counts is P3. The result of Anova test give significant differences with $p = 0.002$ ($p < 0.05$).

Conclusions : Eucheuma sp. can increase significantly the lymphocytes counts of male wistar rats with alloxant diabetes and feed with of Eucheuma sp. compare with the lymphocyte counts od male wistar rats without Eucheuma sp. diet.

Keywords : Alloxant diabetes, Eucheuma sp., lymphocytes counts.

Pengaruh Diet Rumput Laut *Eucheuma* sp. terhadap Jumlah Limfosit Tikus Wistar dengan Diabetes Aloksan

Windy Oliviany ^{*)}, Setia Rahardja Komala ^{)}**

Abstrak

Latar Belakang : Hiperglikemi kronik pada diabetes berhubungan dengan kerusakan jangka panjang sebagai akibat meningkatnya radikal bebas pada tubuh, termasuk rusaknya sel limfosit. Karagenan pada rumput laut *Eucheuma* sp. dapat mencegah hiperglikemi sehingga peningkatan radikal bebas dapat dicegah. Selain itu, vitamin C, vitamin E, β -karoten, dan Selenium yang terkandung dalam *Eucheuma* sp. berfungsi sebagai antioksidan yang kuat. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh diet rumput laut *Eucheuma* sp. terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

Metode : Penelitian eksperimental dengan desain *Post Test Only Control Group Design*, dilakukan di laboratorium Biokimia Kedokteran UNDIP Semarang. Tiga puluh lima ekor tikus wistar jantan dibagi secara acak menjadi lima kelompok, yaitu kontrol negatif (KN): diberi diet standar; kontrol positif (KP) : diberi diet standar dan disuntik aloksan intraperitoneal sebanyak 125 mg/KgBB sehingga menjadi diabetes; kelompok perlakuan pertama P1 : diinduksi diabetes (dengan suntikan aloksan intraperitoneal sebanyak 125 mg/KgBB) dan diberi diet *Eucheuma* sp. 4 gr/KgBB/hari; kelompok perlakuan kedua (P2): diinduksi diabetes dan diberi diet *Eucheuma* sp. 8 gr/KgBB/hari; dan kelompok ketiga (P3) diinduksi diabetes dan diberi diet *Eucheuma* sp. 12 gr/KgBB/hari. Penelitian dilakukan selama 70 hari dengan masa adaptasi selama 1 minggu pertama kemudian perlakuan dilakukan selama 63 hari berikutnya. Pada hari ke-70, tikus diterminasi untuk diambil data jumlah limfosit tikus wistar jantan. Tikus yang memenuhi kriteria inklusi hingga akhir penelitian sebanyak 25 ekor tikus.

Hasil : Rerata jumlah limfosit tikus wistar jantan berturut-turut (dalam $10^3/\mu\text{L}$) pada kelima kelompok adalah : KN = 6.64 ± 1.32 ; KP = 2.38 ± 0.56 ; P1 = 4.38 ± 2.15 ; P2 = 3.42 ± 0.88 ; P3 = 4.62 ± 1.59 . Jumlah limfosit tertinggi pada kelompok P3. Hasil uji Anova didapatkan hasil perbedaan yang bermakna dengan nilai signifikan $p = 0.002$ ($p < 0.05$).

Kesimpulan : *Eucheuma* sp. dapat meningkatkan secara bermakna jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan yang diberi diet rumput laut dibanding dengan tikus wistar dengan diabetes aloksan tanpa diberi diet rumput laut.

Kata Kunci : Diabetes aloksan, *Eucheuma* sp., jumlah limfosit.

^{*)} Mahasiswa S1 Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

^{**)} Staf Pengajar Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. LATAR BELAKANG

Diabetes Melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik dengan karakteristik hiperglikemi yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya. Hiperglikemi kronik pada diabetes ini berhubungan dengan kerusakan jangka panjang dan kegagalan organ tubuh.^{i,ii}

Penelitian epidemiologi menunjukkan adanya kecenderungan peningkatan angka insidensi dan prevalensi diabetes melitus di berbagai penjuru dunia. WHO memperkirakan bahwa pada tahun 2025 nanti, jumlah penderita diabetes akan membengkak menjadi 300 juta jiwa. Data WHO pada tahun 2005 menunjukkan peningkatan tertinggi jumlah penderita diabetes melitus justru terjadi di Asia Tenggara.ⁱⁱⁱ

Pada tahun 2006, jumlah penyandang diabetes (diabetisi) di Indonesia mencapai 14 juta orang. Menurut survey WHO, Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita Diabetes Melitus dengan prevalensi 8,6% dari total penduduk, sedangkan urutan di atasnya India, China dan Amerika Serikat. Temuan tersebut semakin membuktikan bahwa penyakit Diabetes Melitus merupakan masalah kesehatan masyarakat yang sangat serius.^{iv}

Peningkatan insidensi diabetes melitus yang eksponensial ini tentu akan diikuti oleh kemungkinan terjadinya komplikasi yang dapat mengenai berbagai jaringan dan organ tubuh. Salah satu di antaranya adalah gangguan respon

imunitas. Pada kondisi diabetes dimana kadar glukosa darah melebihi batas normal (hiperglikemi), memicu terjadinya peningkatan radikal bebas dan penurunan antioksidan. ^{v,vi,vii}

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa terjadi suatu penurunan antioksidan total yang signifikan pada penderita diabetes melitus tipe 1 (DM tipe 1). Keadaan inilah yang menyebabkan terjadinya stres oksidatif pada berbagai sel tubuh, termasuk sel limfosit. Akibatnya terjadi perubahan metabolisme pada sel limfosit sehingga mempengaruhi fungsi limfosit yang merupakan salah satu sel pertahanan tubuh. Tidak hanya itu, stres oksidatif yang disebabkan tingginya kadar glukosa darah ini pun menyebabkan penurunan jumlah limfosit yang beredar dalam sirkulasi. Penurunan jumlah limfosit ini terjadi melalui beberapa mekanisme, antara lain perubahan pada membran sel limfosit serta apoptosis dan fragmentasi DNA sel limfosit. ^{v,vii,viii,ix}

Berdasarkan hasil beberapa penelitian terhadap rumput laut *Eucheuma* sp. menunjukkan bahwa *Eucheuma* sp. mengandung senyawa karagenan yang mampu menahan laju absorpsi glukosa darah dari saluran cerna menuju pembuluh darah sehingga mampu menahan laju peningkatan kadar glukosa darah. Dengan mencegah peningkatan kadar glukosa diharapkan dapat mencegah peningkatan radikal bebas. Di samping itu, *Eucheuma* sp. juga mengandung senyawa penting bagi tubuh, seperti asam amino-asam amino (leusin, arginin, lisin, treonin, valin, isoleusin, dan fenil alanin), mineral (zinc, iodium, sulfur, kalsium, selenium, sulfur), vitamin A, B1 (tiamin), B2 (riboflavin), asam folat, niasin, asam pantotenat, vitamin C, dan vitamin E. Vitamin A, C, dan E serta selenium tersebut

merupakan antioksidan. Pemberian antioksidan yang terkandung dalam *Eucheuma* sp. diharapkan mampu mengatasi kerusakan dan penurunan jumlah limfosit. Dengan demikian, maka kerusakan sel-sel limfosit oleh karena peningkatan radikal bebas berlebih dapat dicegah sehingga diharapkan pemberian rumput laut dapat meningkatkan jumlah limfosit. ^{x,xi,xii}

Namun, hingga saat ini belum ditemukan informasi lebih rinci tentang efek rumput laut *Eucheuma* sp. dalam meningkatkan jumlah limfosit pada penderita diabetes melitus. Oleh karena itulah, perlu dilakukan penelitian mengenai khasiat rumput laut *Eucheuma* sp. dalam meningkatkan jumlah limfosit terhadap tikus wistar dengan diabetes aloksan (tikus wistar yang diinduksi aloksan). Penelitian ini diharapkan juga dapat digunakan sebagai dasar pengembangan rumput laut *Eucheuma* sp. sebagai alternatif obat alami bahari dalam mengatasi penurunan jumlah limfosit pada penderita diabetes.

1.2. PERUMUSAN MASALAH

Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan masalah penelitian ini adalah apakah pemberian diet *Eucheuma* sp. dengan dosis tertentu memiliki efek terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan?

1.3. TUJUAN PENELITIAN

1.3.1. Tujuan Umum

Untuk menganalisis efek pemberian *Eucheuma* sp. per oral terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

1.3.2. Tujuan Khusus

- Membuktikan adanya perbedaan jumlah limfosit antara tikus wistar dengan diabetes aloksan dengan tikus yang tidak diinduksi aloksan.
- Menganalisis pengaruh diabetes aloksan terhadap jumlah limfosit pada tikus wistar.
- Membuktikan adanya perbedaan jumlah limfosit antara tikus wistar wistar dengan diabetes aloksan dan diberi rumput laut (*Eucheuma* sp.) dengan tikus wistar dengan diabetes aloksan tanpa pemberian rumput laut (*Eucheuma* sp.)
- Menilai pengaruh pemberian rumput laut (*Eucheuma* sp.) per oral terhadap jumlah limfosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan.

1.4. MANFAAT PENELITIAN

1. Memberikan informasi mengenai pengaruh diet rumput laut *Eucheuma* sp. terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.
2. Memberikan informasi yang dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut tentang efek rumput laut *Eucheuma* sp. pada diabetes aloksan.
3. Memberikan informasi pada instansi terkait sebagai dasar untuk membuat kebijakan mengenai pemanfaatan rumput laut di bidang kesehatan.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1. RUMPUT LAUT (*Eucheuma* sp.)

2.1.1. Klasifikasi

Dalam bahasa ilmiah, rumput laut (*seaweed*) dikenal dengan istilah alga atau ganggang. Dilihat dari ukurannya, rumput laut terdiri dari jenis mikroskopik dan makroskopik. Alga makroskopik inilah yang dikenal sebagai rumput laut.

Berdasarkan pigmennya, rumput laut dapat dibedakan menjadi kelas alga merah (*Rhodophyceae*), alga coklat (*Phaeophyceae*), alga hijau (*Chlorophyceae*) dan alga biru - hijau (*Cyanophyceae*). Beberapa jenis rumput laut Indonesia yang bernilai ekonomis dan sejak dulu sudah diperdagangkan yaitu: *Eucheuma* sp, *Hypnea* sp, *Glacilaria* sp dari kelas *Rhodophyceae* serta *Sargassum* sp dari kelas *Phaeophyceae*. *Eucheuma* sp sendiri digunakan sebagai pemanis, bahan dasar karagenan, campuran sayur dan bahan obat. ^{xiii,xiv}

Eucheuma sp. merupakan rumput laut merah yang diklasifikasikan sebagai berikut : ^{xv}

Phyllum	: Rhodophyta
Class	: Rhodophyceae
Ordo	: Gigartinales
Family	: Solieriaceae
Genus	: Eucheuma
Species	: <i>Eucheuma</i> sp.

Pada hakekatnya *Eucheuma* sp. tidak mempunyai akar, batang, dan daun yang berfungsi seperti pada tumbuhan darat tetapi *Eucheuma* sp. terdiri dari semacam batang yang disebut *thallus*. *Eucheuma* sp. mempunyai *thallus* silindris, permukaan yang licin, berwarna merah atau merah coklat yang disebabkan oleh pigmen fikoeritin, memiliki benjolan dan duri, bercabang ke berbagai arah dengan batang – batang utama keluar saling berdekatan ke daerah pangkal. ^{xv,xvi}



Gambar 1. *Euchema* sp.

Eucheuma sp. banyak ditemukan dan dibudidayakan di sepanjang pesisir perairan Indonesia yang dangkal seperti Kepulauan Riau, Lampung, Kepulauan Seribu, Bali, Lombok, Flores, Sumba, Kepulauan Karimun Jawa, dan Jawa Tengah bagian selatan.

2.1.2. Kandungan dan Manfaat

Eucheuma sp. banyak dimanfaatkan dalam berbagai bidang di masyarakat, di antaranya sebagai pupuk organik karena mengandung bahan-bahan mineral seperti potasium, dan hormon seperti auxin dan sitokinin yang dapat

meningkatkan daya pertumbuhan tanaman dalam berbunga dan berbuah, bahan pengental (*thickener*), pembentuk gel, pengemulsi dan pengimbang (*stabilisator*) pada industri makanan, pasta gigi, farmasi, kosmetik, tekstil, cat, karet, dan kertas. Selain itu *Eucheuma* sp. dapat dimanfaatkan sebagai sayuran dan makanan tambahan berupa agar. ^{x,xi,xvii}

Dalam dunia kedokteran dan farmasi, *Eucheuma* sp. digunakan sebagai bahan obat asma, bronkhitis, TBC, cacingan, sakit perut, demam, rematik, anti hiperkolesterol, sumber iodium, seng, selenium. dan vitamin seperti vitamin B1, B2, B6, B12, dan β – karoten, , anti kanker karena kandungan antioksidannya yang tinggi, menurunkan kadar gula darah, dan dapat meningkatkan jumlah limfosit. ^{x,xi,xviii}

Kandungan nutrisi rumput laut tiap 100 gram porsi makanan adalah : ^{xix}

- Air	: 12,9 gram
- Energi	: 26 kcal / 109 kl
- Protein	: 5,12 gram
- Lemak total	: 0,03 gram
- Asam lemak jenuh	: 0,006 gram
- Asam lemak tak jenuh	: 0,003 gram
(monounsaturated)	
- Asam lemak tak jenuh	: 0,01 gram
(polyunsaturated)	
- Karagenan	: 65,75 mg
- Kalsium	: 54 mg

- Besi	: 1,86 mg
- Seng	: 0,58 mg
- Tembaga	: 0,061 mg
- Mangan	: 0,373 mg
- Fosfor	: 5 mg
- Vitamin B kompleks	: 43 mg
- Vitamin E	: 0,87 mg
- Vitamin C	: 43 mg
- Vitamin A	: 82,59 ppm

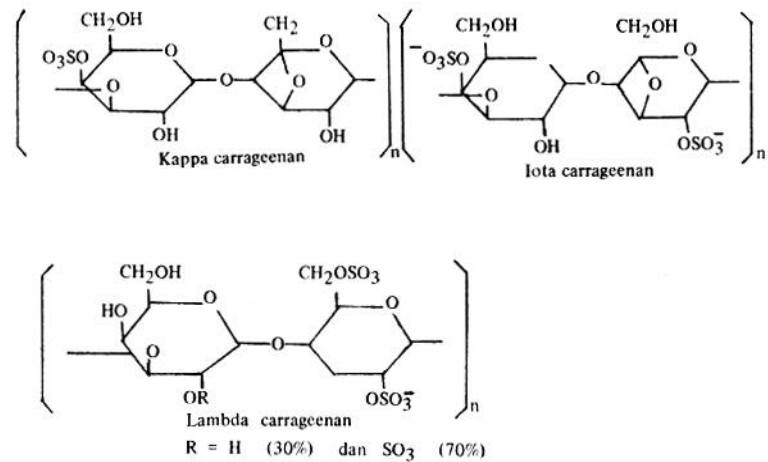
Selain itu, *Eucheuma* sp. mempunyai kandungan karagenan yang merupakan serat larut air dalam konsentrasi yang cukup tinggi.^{x,xiii,xiv}

2.1.3. Pengaruh *Eucheuma* sp. Terhadap Kadar Gula Darah

Eucheuma sp. mempunyai kandungan karagenan sebagai senyawa serat larut air pengikat kation yang sangat tinggi. Karagenan adalah senyawa polisakarida yang tersusun dari unit β - D – galaktosa dan α - L – galaktosa 3,6 anhidrogallaktosa yang dihubungkan oleh ikatan 1,4 glikosiklik dimana setiap unit galaktosa mengikat gugusan sulfat.^{x,xi,xx}

Karagenan dibedakan menjadi 3 golongan berdasarkan sifat jelly yang terbentuk yaitu : *kappa* karagenan (jelly bersifat kaku dan getas seta keras), *iota* karagenan (jelly lembut dan fleksibel atau lunak) dan *lambda* karagenan (tidak dapat membentuk jelly tetapi berbentuk cairan yang *viscous*). Kappa karagenan

berasal dari *Eucheuma cottonii* dan *Eucheuma striatum* sedangkan Iota kagarinan berasal dari *Eucheuma spinosum*.^{xxi,xxii}



Gambar 2. Rumus bangun dari karagenan.

Karagenan adalah salah satu jenis serat larut air yang sukar dicerna oleh enzim manusia sehingga berfungsi menurunkan kadar kolesterol darah dan memperlambat pengosongan lambung. Selain itu, serat tersebut dapat berperan terhadap pengikatan asam empedu yang diduga sebagai promotor terbentuknya proses kimiawi dalam karsinogenesis sehingga apabila proses pengikatan tersebut terjadi maka dapat menurunkan terjadinya kanker usus besar.^{xi,xxiii,xxiv}

Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan

laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial dan mengurangi penurunan balik gula darah yang akan merangsang selera makan.^{xi,xxiii}

2.1.4. *Eucheuma* sp. Sebagai Antioksidan

Antioksidan alami terdapat dalam jumlah tidak terbatas pada spesies tumbuhan. Antioksidan ini juga ditemukan pada spesies tumbuhan laut seperti rumput laut. Rumput laut tidak mengandung lemak yang bermakna, tetapi kaya selenium yang bersifat antioksidan. Ini artinya rumput laut mampu membantu tubuh mencegah penyerapan zat kimia beracun, termasuk sampah radioaktif dan polusi. Di samping itu, *Eucheuma* sp. juga mengandung vitamin C dan vitamin E yang berperan sebagai antioksidan.^{x,xi}

Nutrisi yang optimal dalam rumput laut membuatnya mampu memberikan fungsi imun terbaik dan merevitalisasi tubuh.

2. 2. DIABETES MELITUS

2.2.1. Definisi

Diabetes Melitus adalah penyakit metabolik yang berlangsung kronik progresif, dengan gejala hiperglikemi yang disebabkan oleh gangguan sekresi insulin, gangguan kerja insulin, atau keduanya. Konsep klinik dari Diabetes Melitus adalah suatu sindroma yang merupakan gabungan kumpulan gejala-gejala klinik meliputi aspek metabolik dan vaskuler yaitu hiperglikemia puasa dan post prandial, aterosklerotik dan penyakit vaskular mikroangiopati, serta hampir semua organ tubuh akan terkena dampaknya.^{xxv,xxvi}

2.2.2. Patofisiologi Diabetes Melitus Tipe 1

Diabetes melitus tipe 1 atau Insulin Dependent Diabetes Mellitus (IDDM) adalah penyakit autoimun yang ditentukan secara genetik dengan gejala-gejala yang pada akhirnya menuju proses bertahap perusakan imunologik sel-sel yang memproduksi insulin. Manifestasi klinis diabetes melitus terjadi jika lebih dari 90% sel-sel beta menjadi rusak. ^{xxvii}

Diabetes tipe 1 ini dulu dikenal sebagai tipe *juvenile-onset* karena biasanya terjadi pada orang muda. IDDM memiliki onset yang akut dan sering menyebabkan berbagai macam komplikasi sekunder. ^{xxvii}

Berbagai faktor risiko seperti genetik, tekanan lingkungan, infeksi virus, dan diet dapat menyebabkan seseorang menjadi IDDM. Infeksi virus tersebut misalnya coxackievirus, mumps, measles, CMV, rubella, dan infeksi mononukleosis. Virus-virus ini tidak secara langsung menyebabkan kerusakan sel beta namun lewat pembentukan autoantibodi. Mekanisme yaitu pertama, infeksi memicu kerusakan jaringan dan peradangan yang berakibat dilepaskannya antigen sel beta dan aktivasi limfosit serta lekosit peradangan pada jaringan. Kedua, virus ini memproduksi protein yang mirip self antigen dan respon imun yang seharusnya bereaksi dengan protein virus justru bereaksi silang dengan self antigen ini. ^{xii,xxviii,xxix}

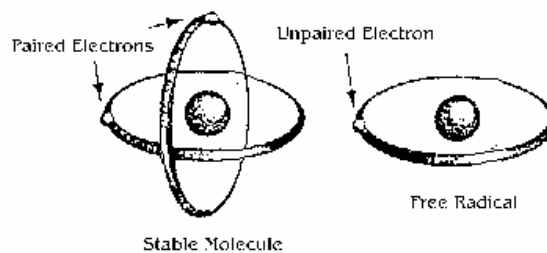
2.3. RADIKAL BEBAS

2.3.1. Definisi

Radikal bebas adalah atom maupun molekul yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada lapisan luarnya. Konsekuensi berupa kecenderungannya memperoleh elektron dari substansi lain menjadikan radikal bebas sangat reaktif. ^{xxx,xxxi,xxxii}

2.3.2. Sifat Radikal bebas

Radikal bebas bersifat sangat reaktif. Radikal bebas mempunyai spesifitas kimia yang rendah sehingga dapat bereaksi dengan berbagai molekul lain, seperti protein, lemak, karbohidrat, dan DNA. Dalam rangka mendapatkan stabilitas kimia, radikal bebas akan menyerang molekul stabil terdekat dan mengambil elektronnya. Molekul yang terambil elektronnya tersebut juga akan menjadi radikal bebas sehingga akan memulai suatu reaksi berantai, yang akhirnya terjadi peningkatan radikal bebas. Karena bersifat sangat reaktif, radikal bebas yang berlebih dapat menyebabkan kerusakan sel. Kerusakan ini dapat terjadi pada berbagai sel tubuh, termasuk pada limfosit. ^{xxxi,xxxii}



Gambar 3. Struktur kimia radikal bebas.

2.3.3. Tipe Radikal Bebas Dalam Tubuh

Radikal bebas terpenting dalam tubuh adalah radikal derivat dari oksigen yang disebut kelompok oksigen reaktif (*reactive oxygen species*/ROS), termasuk didalamnya adalah triplet ($3O_2$), tunggal (singlet/ 1O_2), anion superoksida ($O_2^{\cdot-}$), radikal hidroksil ($-OH$), nitrit oksida ($NO\cdot$), peroksinitrit ($ONOO\cdot$), asam hipoklorus ($HOCl$), hidrogen peroksida (H_2O_2), radikal alkoxyl ($LO\cdot$), dan radikal peroksil ($LO_2\cdot$). Radikal bebas yang mengandung karbon ($CCL_3\cdot$) yang berasal dari oksidasi radikal molekul organik. Radikal yang mengandung hidrogen hasil dari penyerangan atom H ($H\cdot$). Bentuk lain adalah radikal mengandung sulfur yang diproduksi pada oksidasi glutathione menghasilkan radikal thiol ($R-S\cdot$).^{.xxxiii}

2.3.4. Reaksi Perusakan Oleh Radikal Bebas

Definisi tekanan oksidatif (*oxidative stres*) adalah suatu keadaan dimana tingkat oksigen reaktif intermediate (ROI) yang toksik melebihi pertahanan anti-oksidan endogen. Keadaan ini mengakibatkan kelebihan radikal bebas, yang akan bereaksi dengan lemak, protein, asam nukleat seluler, sehingga terjadi kerusakan lokal dan disfungsi organ tertentu. Lemak merupakan biomolekul yang rentan terhadap serangan radikal bebas.

2.3.4.1. Peroksidasi Lemak

Membran sel kaya akan sumber *poly unsaturated fatty acid* (PUFA), yang mudah dirusak oleh bahan-bahan pengoksidasi; proses tersebut dinamakan peroksidasi lemak. Hal ini sangat merusak karena merupakan suatu proses

berkelanjutan. Pemecahan hidroperoksida lemak sering melibatkan katalisis ion logam transisi.^{xxxi,xxxii}

2.3.4.2. Kerusakan Protein

Protein dan asam nukleat lebih tahan terhadap radikal bebas daripada PUFA, sehingga kecil kemungkinan dalam terjadinya reaksi berantai yang cepat. Serangan radikal bebas terhadap protein sangat jarang, kecuali bila sangat ekstensif. Hal ini terjadi hanya jika radikal tersebut mampu berakumulasi (jarang pada sel normal), atau bila kerusakannya terfokus pada daerah tertentu dalam protein. Salah satu penyebab kerusakan terfokus adalah jika protein berikatan dengan ion logam transisi.^{xxxi,xxxii}

2.3.4.3. Kerusakan DNA

Seperti pada protein kecil kemungkinan terjadinya kerusakan di DNA menjadi suatu reaksi berantai, biasanya kerusakan terjadi bila ada lesi pada susunan molekul, apabila tidak dapat diatasi, dan terjadi sebelum replikasi maka akan terjadi mutasi. Radikal oksigen dapat menyerang DNA jika terbentuk disekitar DNA.^{xxxiv}

2.3.5. Komplikasi Hiperglikemi dan Radikal Bebas

Hiperglikemi kronik dapat menyebabkan gangguan pada sel. Hiperglikemi kronik merupakan inisiator terjadinya komplikasi mikrovaskular pada penderita diabetes melitus. Dalam keadaan normal sebagian besar glukosa mengalami

metabolisme lewat jalur glikolisis dan *pentose shunt*. Apabila terjadi hiperglikemi, pembuangan glukosa lewat jalur tersebut di atas cenderung meningkat sehingga glukosa juga diubah menjadi sorbitol lewat jalur *polyol*, *glucosamine-6-phosphate* lewat jalur *hexosamine* dan enzim *glucosaminefructose-amidotransferase* (GFAT), dan *diacylglycerol* (DAG) lewat sintesis de novo dari glukosa langsung. Sebagian glukosa yang berlebih mengalami reaksi non enzimatik, dengan protein atau bahan dalam sirkulasi maupun jaringan sehingga mempercepat secara fisiologis glikasi non enzimatik. Disamping itu glukosa mengalami *otooksidasi*, yang berakibat, bersama dengan radikal bebas yang terbentuk dari beberapa reaksi enzimatik maupun nonenzimatik, menjadi stress oksidatif. Reaksi-reaksi tersebut di atas saling terkait satu sama lain bahkan kadang saling memperkuat. Sering kali stress oksidatif dianggap sebagai *a single unifying mechanism* dan aktivasi PKC (*protein kinase C*) sebagai *final common pathway*.

Mekanisme terjadinya komplikasi hiperglikemi pada diabetes melitus dengan patogenesis terjadinya stres oksidatif dapat diterangkan melalui beberapa teori sebagai berikut : (a) teori polyol pathway; (b) teori AGEs; (c) teori *reactive oxygen intermediates* dan (d) teori protein kinase C (PKC).^{xxx,xxxv,xxxvi}

1. Peningkatan aktivitas aldosa reduktase (teori jalur polioli)
2. Glikosilasi non enzimatik dan Pembentukan AGEs
3. Stres oksidatif (Teori Pembentukan *Reactive Oxygen Species*)
4. Protein Kinase C (PKC)

1) Peningkatan aktivitas aldosa reduktase (teori jalur poliol).

Sebagai akibat hiperglikemia, dalam jaringan terjadi peningkatan kadar glukosa. Oleh enzim aldosa reduktase (AR), kelebihan glukosa tersebut akan dirubah menjadi sorbitol, yang berakibat meningkatnya kadar sorbitol di dalam sel. Akumulasi sorbitol akan meningkatkan osmolaritas didalam sel, sehingga terjadi perubahan fisiologi sel. Sel dengan kadar sorbitol yang tinggi menunjukkan penurunan pada aktivitas protein kinase C dan Na^+ , K^+ -ATPase membran.

Jalur poliol dari metabolisme glukosa menjadi aktif bilamana kadar glukosa intraseluler meningkat. Aldose reduktase (AR), mereduksi glukosa menjadi sorbitol menggunakan NADPH sebagai suatu kofaktor; sorbitol kemudian dimetabolisme menjadi fruktosa oleh sorbitol dehidrogenase yang menggunakan NAD^+ sebagai kofaktor. Sorbitol merupakan suatu alkohol, *polyhydroxylated*, dan hidrofilik yang kuat, dan oleh karena itu tidak dapat berdifusi secara langsung melalui membran sel dan terakumulasi secara intraseluler sebagai akibat daya osmotik. ^{xxxvii}

Fruktosa yang diproduksi oleh jalur poliol dapat difosforilasi menjadi fruktosa-3-fosfat, yang kemudian dipecah menjadi 3-deoxyglucosone; kedua senyawa tersebut merupakan agen glikosilasi kuat yang nantinya akan masuk ke dalam mekanisme pembentukan *Advanced Glycation Endproducts* (AGEs). Penggunaan NADPH oleh AR dapat menyebabkan persediaan kofaktor bagi enzim glutathion reduktase menjadi berkurang, hal ini menyebabkan keadaan kritis dalam

mempertahankan cadangan intraseluler glutathion yang tereduksi (GSH). Hal ini dapat mengurangi kemampuan sel terhadap respon stres oksidatif. Sebagai kompensasinya, terjadi peningkatan aktivitas *glucose monophosphate shunt*, yang merupakan penyalur NADPH seluler yang paling utama. Penggunaan NAD oleh sorbitol dehidrogenase menyebabkan peningkatan rasio NADH/NAD^+ , yang dikenal dengan istilah “*pseudohipoksia*” dan berhubungan pada sejumlah besar perubahan metabolik dan perubahan sinyal yang diketahui dapat menyebabkan perubahan fungsi sel. Diyakini bahwa NADH yang melimpah mungkin dapat menjadi substrat bagi NADH oksidase, dan dengan demikian akan terjadi pembentukan spesies oksidan intraseluler.

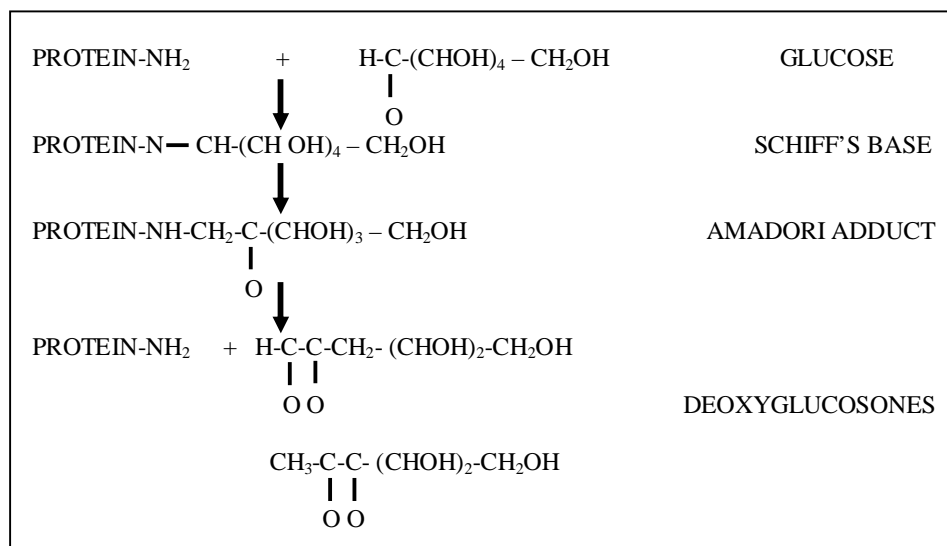
Sebagai akibat peningkatan jalur poliol ini maka terjadi perubahan metabolik dan perubahan sinyal pada sel yang mampu menginisiasi dan memperbanyak mekanisme yang menyebabkan terjadinya kerusakan sel.

2) Glikosilasi non enzimatik dan pembentukan *Advanced Glycation Endproducts* (AGEs).

Teori ini menerangkan bahwa komplikasi diabetik merupakan bentuk dari “proses menua yang dipercepat” dan terjadi karena modifikasi kovalen dan *crosslinking* protein oleh glukosa. AGEs merupakan produk akibat glikasi nonenzimatik protein yang beragam dalam struktur kimiawinya. FFI, AFGP, *N-carboxymethyl lysine*, pyrralin, dan pentosidin adalah contoh dari AGEs.

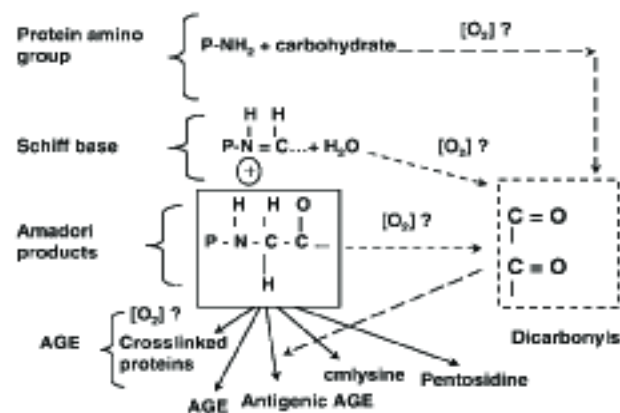
Glukosa adalah suatu aldehid yang bersifat reaktif, yang dapat bereaksi secara spontan, walaupun lambat dengan protein. Melalui proses yang disebut dengan glikosilasi non enzimatis, protein mengalami modifikasi. Gugus aldehid glukosa bereaksi dengan gugus amino yang terdapat pada suatu protein, membentuk produk glikosilasi yang bersifat reversible. Produk ini mengalami serangkaian reaksi dengan gugus NH_2 dari protein dan mengadakan ikatan silang membentuk *advanced glycation end-products* (AGEs).

Glukosa dapat juga menjalankan glikasi secara langsung, dimana molekul glukosa secara kovalen berikatan dengan protein membentuk *Schiff base*. Molekul-molekul ini dapat melakukan penataan ulang membentuk *Amadori adduct*. *Amadori adduct* kemudian mengalami dekomposisi menjadi deoxyglucose, yang dianggap lebih reaktif dibanding gula turunannya (lihat gambar 4).



Gambar 4. Proses Glikasi dan Lanjutan Degradasi Produk Glikasi.

Pembentukan AGEs juga disebut dengan reaksi *Maillard*, yang merupakan rangkaian reaksi kimia yang terkait dalam rangkaian yang sangat rumit. Pembentukan AGEs melalui jalur klasik yaitu lewat reaksi Maillard antara glukosa atau gula tereduksi lainnya dan residu N-terminal amino acid dan atau gugus amino protein yang dikenal dengan *Schiff base* yang menghasilkan Amadori product seperti fructose lysine. Reaksi kemudian diikuti dehidrasi, succesiv β -elimination dan kondensasi. Sebagian besar AGEs adalah bentuk yang tidak stabil, senyawa reaktif dan produk akhirnya sulit untuk dianalisis dengan lengkap. Akumulasi AGEs pada kolagen dapat menurunkan elastisitas jaringan ikat sehingga menimbulkan perubahan pada pembuluh darah dan membran basalis.



Gambar 5. Reaksi Maillard.

AGEs dapat dibentuk pada beberapa kondisi selama fermentasi, memasak, atau oksidasi di atmosfer. AGEs bersifat toksik dan dapat

menginduksi mutagenesis bakteri. AGEs dibentuk dalam jumlah berlebih selama proses penuaan, diabetes melitus, dan gagal ginjal.

Terbentuknya AGEs dapat merusak sel karena mengganggu struktur protein intrasel dan ekstrasel seperti kolagen. Pada endotel mikrovaskular manusia, AGEs menghambat produksi prostasiklin dan mengakibatkan agregasi trombosit, stabilisasi fibrin hingga memudahkan trombosis.

3) Stres oksidatif (Teori Pembentukan *Reactive Oxygen Species*).

Stres oksidatif timbul bila pembentukan reactive oxygen species (ROS) melebihi kemampuan mekanisme seluler dalam mengatasi yang melibatkan sejumlah enzim dan vitamin yang bersifat antioksidan. Stres oksidatif pada diabetes melitus dapat disebabkan karena gangguan keseimbangan redoks akibat perubahan metabolisme karbohidrat dan lipid, peningkatan reactive oxygen species akibat proses glikosilasi/glikoksidasi lipid dan penurunan kapasitas antioksidan.

Ada tiga cara stres oksidatif meningkat yaitu, (a) glikasi yang labil; (b) otooksidasi glukosa; dan (c) aktivasi intrasel jalur poliol. Glikolisis dan siklus krebs menghasilkan energi yang ekuivalen untuk mendorong sintesis ATP mitokondria, sebaliknya hasil samping fosforilasi oksidatif mitokondria (termasuk radikal bebas dan anion superoksida) juga ditingkatkan oleh kadar glukosa yang tinggi. Autooksidasi glukosa pun menaikkan radikal bebas menjadi stress oksidatif yang akan menurunkan

kadar NO, merusak protein sel, meningkatkan adhesi leukosit pada endotel sedang fungsinya sebagai *barrier* terhambat.

4) Teori Protein Kinase C (PKC).

Diacylglycerol (DAG) dan *protein kinase C* (PKC) adalah molekul sinyal yang banyak berperan dalam faal vaskular seperti permeabilitas, vasodilatasi, aktivasi endotel, dan sinyal pertumbuhan. Phospholipase-C mengaktifkan pembentukan PKC dengan cara merangsang Ca^{2+} dan kadar DAG. Keadaan patologik ini dapat ditemukan pada diabetes karena *glycolytic-pathway flux* meningkatkan *glyceraldehyde-3-phosphate* intrasel, sintesis DAG dan akhirnya aktivasi PKC. Meningkatnya aksi PKC pada pembuluh retina, ginjal, dan saraf menyebabkan kerusakan vaskular yang ditandai dengan permeabilitas yang meningkat, disregulasi NO, terjadi adhesi leukosit, dan gangguan aliran darah.

2.4. Limfosit

2.4.1. Kategori Limfosit

Meskipun limfosit tidak dapat dibedakan dalam sedimen apus darah yang biasa, ada tiga kategori utama sel ini dalam darah : sel B, sel T, dan sel nol (null cells). Mereka mempunyai fungsinya sendiri-sendiri yang dapat saling berhubungan erat satu sama lain dan dengan leukosit lainnya, khususnya dengan makrofag. Limfosit dan sel-sel lain dalam sistem mieloid mempunyai sel induk

yang sama, tetapi kemudian bercabang menjadi beberapa kompartmen seluler terpisah. ^{xxxviii}

a. Limfosit-B, sel-sel plasma, dan imunoglobulin (Ig)

Limfosit B berjumlah sekitar 5 hingga 20 persen dari limfosit yang ada dalam darah. Sel-sel tersebut berasal dari sumsum tulang (bone-marrow derived), sekalipun pada burung sel ini berasal dari suatu organ yang dinamakan *bursa Fabricus*. Sel-sel limfosit diidentifikasi dengan adanya imunoglobulin (Ig) pada permukaan selnya, yang dapat dideteksi dengan antibodi fluoresen. Dengan stimulasi antigenik yang tepat dan dengan bantuan dari sel-sel T, pemrosesan antigen oleh sel-sel makrofag, atau kontak langsung dengan tipe-tipe antigen tertentu yang reseptornya mungkin adalah imunoglobulin permukaan (sIg), limfosit B ini akan mengalami transformasi menjadi sel plasma, dan produk-produk mereka menyusun komponen humoral pada respons kekebalan yang paling efektif melawan bakteri piogenik berkapsul, yang fagositosisnya paling efisien kalau ada antibodi.

Respons sel-B terhadap kebanyakan antigen berlangsung lewat pengantaran sinyal-sinyal terlarut dari sel-sel T. Salah satu kelompoknya, yang disebut "helper T cells", menghantarkan suatu sinyal kepada sel B setelah berinteraksi dengan antigen yang telah diproses terlebih dahulu oleh sel-sel makrofag. Sinyal ini diperlukan bagi banyak antigen untuk memicu proliferasi sel B dan akhirnya sintesis Ig.

b. Sel T

Limfosit-T, yang diprogram oleh kelenjar timus, merupakan sekitar 60 hingga 80 persen limfosit darah. Sel ini dengan limfosit-B mungkin mempunyai sel induk yang sama, tetapi jalan mereka berpisah pada awal perkembangannya. Seperti halnya limfosit-B, sel T dapat hidup lama atau singkat dan dapat menjalani resirkulasi secara bebas. Sel T cenderung menempati daerah-daerah yang tidak didiami sel-sel B, daerah ini adalah daerah interfolikuler jaringan limfoid saluran pernafasan dan gastrointestinal, daerah periarteriolar lien, dan daerah-daerah parakortikal kelenjar limfe.

Fungsi sel-sel T cukup beraneka ragam. Sel-sel ini aktif dalam mekanisme pertahanan terhadap patogen intrasel. Sebagaimana disebutkan di depan, sel T membantu mengatur respons sel-sel B terhadap rangsangan antigen dan dalam memproduksi antibodi. Sel-sel T "helper" mendorong proses ini, dan sel T supressor menghambat.

c. Null Cells

Sepuluh hingga 30 persen dari limfosit darah yang tidak membawa penanda (marker) sel-T ataupun sel-B disebut sebagai sel nol (null cells). Sel ini mencakup sel-sel prekursor sel-T serta sel-B yang lebih terdiferensiasi, sel-sel pembunuh alami (natural killer cells),

dan sel-sel yang dapat melaksanakan pembunuhan sel dengan bantuan antibodi (ADCC; antibody-dependent cellular cytotoxicity).

Sel-sel Pembunuh Alami (Natural Killer; NK) merupakan sel-sel yang timus-independen ini dapat menyerang sel-sel tumor atau sel-sel yang terinfeksi virus dan menghancurkannya tanpa perlu pengalaman sebelumnya dengan paparan terhadap antigen.

2.4.2. Limfopenia

Penurunan konsentrasi limfosit darah sampai di bawah $1500/\text{mm}^3$ dapat terjadi pada berbagai macam keadaan. Terapi radiasi, kemoterapi sistemik, pemberian preparat steroid adrenal, dan pelbagai infeksi akut merupakan beberapa keadaan di antara sejumlah penyebab yang paling sering dijumpai. Selain itu, paparan radikal bebas juga dapat menurunkan jumlah limfosit. ^{vii,xxxviii}

2.4.3. Pengaruh Diabetes Aloksan terhadap Limfosit

Diabetes yang disebabkan oleh induksi aloksan serupa dengan diabetes tipe 1 (IDDM) pada manusia. Keadaan diabetes aloksan dengan level hiperglikemi yang tinggi menyebabkan terganggunya keseimbangan metabolisme pada sel-sel tubuh, termasuk sel limfosit. Sebagaimana telah diketahui bahwa limfosit merupakan salah satu komponen penting sel-sel pertahanan tubuh. Inilah yang menjelaskan mengapa pada penderita diabetes, status imun tubuhnya sangat rendah dan akibatnya mudah terserang berbagai penyakit. ^{vi,ix}

Perubahan metabolisme sel limfosit pada keadaan hiperglikemik terutama disebabkan oleh perubahan yang terjadi pada metabolisme glukosa dan glutamin. Kedua metabolit ini merupakan bahan bakar utama bagi limfosit. Gangguan pada kemampuan limfosit dalam menggunakan glukosa dan glutamin dapat berpengaruh secara signifikan terhadap fungsi limfosit dalam merespon stimulus imun. Dengan demikian, maka secara fungsional, kualitas limfosit mengalami penurunan.^{vi}

Keadaan hiperglikemik pada diabetes dimana kadar glukosa darah sangat tinggi memicu peningkatan radikal bebas yang berlebihan hingga mengakibatkan suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Stres Oksidatif ini mengakibatkan kerusakan pada sel limfosit melalui mekanisme gangguan pada membran sel limfosit, apoptosis dan fragmentasi DNA dari inti sel limfosit. Semua mekanisme ini mengakibatkan penurunan jumlah limfosit yang beredar dalam tubuh. Dengan demikian, secara kuantitas jumlah limfosit mengalami penurunan.^{v,vii,viii,ix}

2.5. Pengaruh *Eucheuma sp.* terhadap Jumlah Limfosit pada Diabetes

Aloksan

Berdasarkan patofisiologi diabetes, dapat diketahui bahwa keadaan hiperglikemik merupakan faktor yang paling memberikan pengaruh besar atas terjadinya berbagai macam komplikasi yang terjadi pada diabetes aloksan. Keadaan hiperglikemik ini juga yang menyebabkan penurunan jumlah limfosit melalui mekanisme yang telah dijelaskan pada subbab sebelumnya.

Oleh karena itulah, untuk mengatasi penurunan jumlah limfosit maka intervensi yang dapat dilakukan adalah mencegah keadaan hiperglikemik tersebut. Mekanisme yang dapat dilakukan untuk mencegah hiperglikemik salah satunya adalah dengan menghambat absorpsi glukosa dari usus.

Berdasarkan penelitian, telah diketahui bahwa rumput laut *Eucheuma sp.* mempunyai kandungan karagenan sebagai senyawa serat larut air pengikat kation yang sangat tinggi. Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial.^{xi,xxiii}

Efek karagenan dalam menurunkan kadar glukosa juga disebabkan karena kemampuan karagenan dalam menyerap air yang sangat besar dengan membentuk gel atau larutan kental. Dengan demikian, penyerapan glukosa ke dalam usus menjadi terhambat.^x

Melalui mekanisme penghambatan penyerapan glukosa yang telah dijelaskan di atas dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial. Pencegahan keadaan hiperglikemik ini tentunya dapat menyebabkan tidak terjadinya pembentukan radikal bebas berlebih. Dengan demikian, stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel limfosit dapat dihindari.

Selain karagenan yang merupakan komponen utama, *Eucheuma* sp. juga mengandung nutrisi penting bagi tubuh, antara lain asam amino (leusin, arginin, lisin, treonin, valin, isoleusin, dan fenil alanin), mineral (zinc, iodium, sulfur, calsium, selenium, sulfur), vitamin A (beta karoten), B1 (tiamin), B2 (riboflacin), asam folat, niasin, asam pantotenat, vitamin C, dan vitamin E. ^{xix,xxiv}

Dalam setiap 7 gram rumput laut kering didapatkan beberapa komponen yang telah diketahui dapat berfungsi sebagai antioksidan. Komponen - komponen tersebut di antaranya vitamin C (0,7 mg), vitamin E (0,4 mg), selenium (0.5 mcg), dan β – karoten (39,9 IU). Selain kandungan mineral dan vitamin, di dalam rumput laut kering juga terdapat kandungan karagenan yang cukup tinggi yaitu 300 mg. Karagenan, vitamin C, vitamin E, selenium, dan β – karoten inilah yang diduga kuat sebagai komponen yang menyebabkan rumput laut *Eucheuma* sp. memiliki potensi besar sebagai antioksidan. ^{xxxix}

Vitamin E dan C telah banyak digunakan sebagai suplemen antioksidan bagi penderita diabetes, penyakit kardiovaskular, dan diketahui dapat bermanfaat sebagai antioksidan. Molekul-molekul vitamin ini mempunyai struktur yang dapat menangkap radikal bebas dan menetralsirnya. ^{xl,xli,xlii}

Vitamin E (alfa tokoferol) merupakan pertahanan baris pertama terhadap peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat didalam fosfolipid membran selular dan subselular. Tokoferol berfungsi sebagai antioksidan, memutus berbagai reaksi rantai radikal bebas karena kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil asam lemak tak jenuh ganda yang terperoksidasi. ^{xl,xlii}

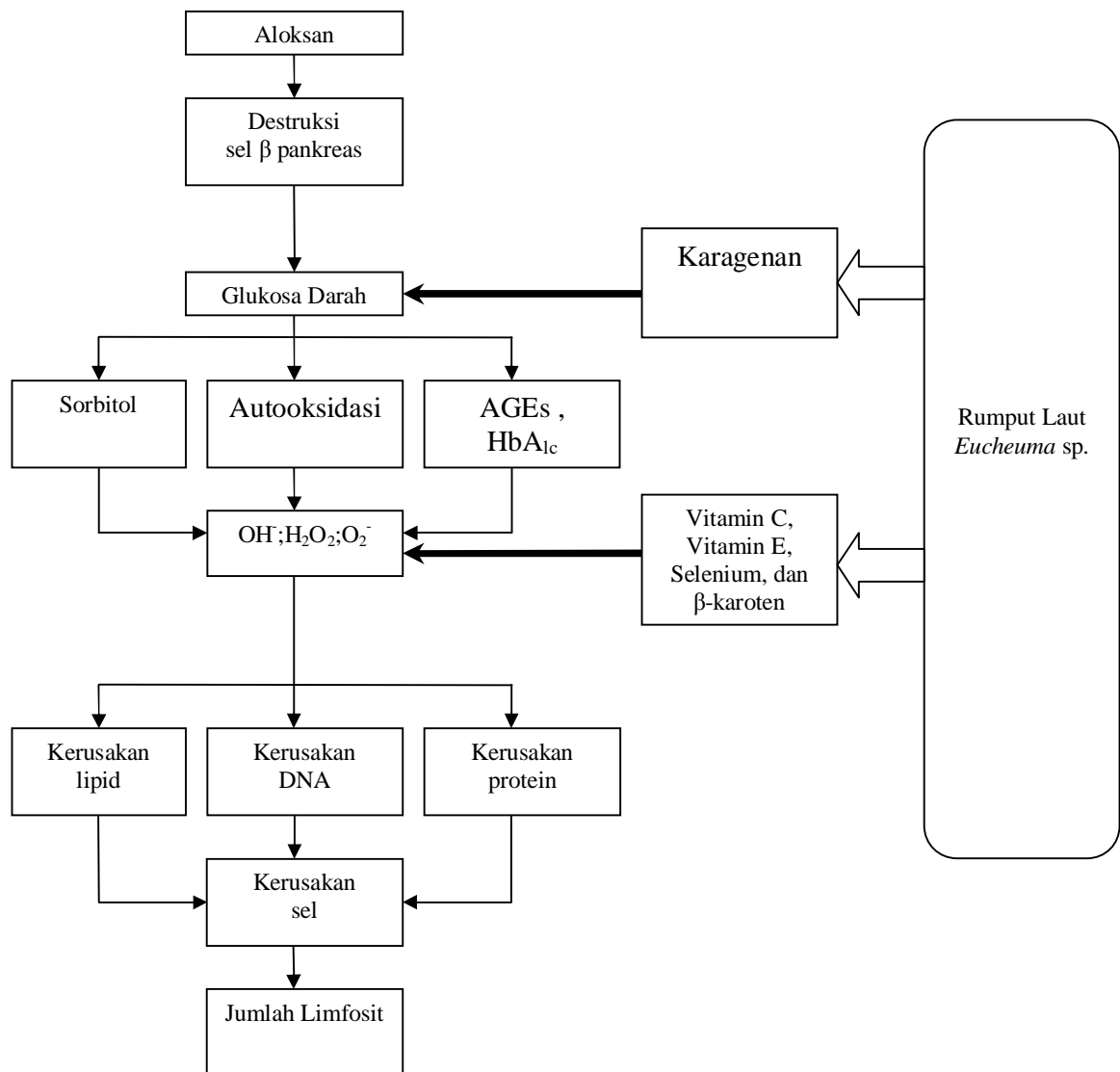
Vitamin C dapat bertindak sebagai antioksidan umum yang larut air, dengan cara mereduksi tokoferol teroksidasi didalam membran sehingga membantu fungsi tokoferol sebagai pertahanan baris pertama dalam proses peroksidasi lipid.^{xl,xli,xlii}

Rumput laut juga mengandung selenium (Se) yang merupakan salah satu komponen integral dari glutathion peroksidase, membentuk pertahanan baris kedua terhadap peroksida sebelum senyawa tersebut dapat merusak membran dan komponen sel lain. Dengan demikian tokoferol dan selenium bekerja sinergis dalam melawan peroksida lipid.^{xl,xli}

Adanya kandungan vitamin C dan Vitamin E, Selenium (Se), dan β -karoten pada *Eucheuma* sp. yang berperan sebagai antioksidan, maka radikal bebas berlebih yang telah terbentuk dapat dinetralisir. Mekanisme ini juga berperan dalam mencegah stres oksidatif terhadap sel limfosit pada keadaan diabetes. Dengan demikian, kerusakan sel limfosit yang berakibat pada penurunan jumlah limfosit dapat dicegah.^{xl,xli,xlii}

Oleh karena itulah, rumput laut *Eucheuma* sp. berpengaruh pada pencegahan penurunan jumlah limfosit pada diabetes aloksan.

2. 6. KERANGKA TEORI

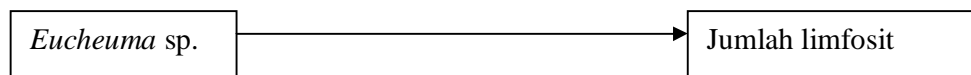


2.7. KERANGKA KONSEP

Pengukuran glukosa darah tidak dilakukan pada percobaan ini karena pada penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa aloksan dapat menyebabkan kerusakan pada sel beta pankreas sehingga menyebabkan peningkatan kadar glukosa darah. Untuk pengukuran H_2O_2 , OH^\cdot , dan O_2^\cdot juga tidak dilakukan karena prosedur yang rumit dan keterbatasan kemampuan peneliti. Oleh karena itu untuk mengetahui terjadinya peningkatan radikal bebas, maka dilakukan pengukuran secara tidak langsung melalui penghitungan jumlah relatif limfosit. Jadi, dalam penelitian ini, fokus peneliti adalah pada perubahan jumlah limfosit. Sedangkan, kualitas atau perubahan fungsi limfosit tidak diteliti pada penelitian ini disebabkan oleh keterbatasan peneliti. ^{xliii}

Pada penelitian ini digunakan tepung rumput laut *Eucheuma* sp. yang mempunyai senyawa karagenan sebagai kandungan utamanya. Berdasarkan data dari penelitian sebelumnya telah terbukti bahwa karagenan dapat menurunkan kadar glukosa darah. Penurunan glukosa darah dapat menghambat terbentuknya radikal bebas berlebih. Keadaan ini diharapkan dapat menyebabkan peningkatan jumlah limfosit. Selain senyawa karagenan, *Eucheuma* sp. juga mengandung beberapa antioksidan, seperti vitamin E, C, β -karoten, dan mineral seperti Selenium. Antioksidan tersebut sangat penting bagi limfosit untuk menangkal radikal bebas berlebih yang dapat menyebabkan kerusakan sel limfosit.

Penelitian ini untuk membuktikan pemberian diet *Eucheuma* sp. dapat meningkatkan jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan. Namun dalam penelitian ini, tidak dibedakan kandungan apa yang benar-benar berpengaruh terhadap pencegahan penurunan jumlah limfosit, apakah karagenan, vitamin C, vitamin E, β -karoten, ataukah selenium yang terdapat pada *Eucheuma* sp.



2.8. HIPOTESIS

Pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. dapat meningkatkan jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. RANCANGAN PENELITIAN

3.1.1. Ruang Lingkup Keilmuan

Ruang lingkup dari penelitian ini meliputi bidang Biokimia, Farmasi, Imunologi, dan Patologi Klinik.

3.1.2. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret – Mei. Sampel *Eucheuma sp.* dikoleksi dari perairan Karimunjawa, Jepara, Jawa Tengah. Pengolahan rumput laut dilaksanakan di SP3T UNDIP. Tikus wistar jantan diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Penelitian Universitas Negeri Semarang. Selanjutnya untuk pemeliharaan dan pemberian perlakuan dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran UNDIP. Penghitungan jumlah limfosit dilakukan di laboratorium swasta yang bersertifikat.

3.1.3. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimental dengan pendekatan *post test only control group design*. Sebagai obyek pada penelitian ini adalah tikus wistar dengan diabetes aloksan.

3.2. Populasi dan Sampel

3.2.1. Populasi

Populasi penelitian ini adalah tikus wistar dengan diabetes aloksan yang diperoleh dari Unit Pengembangan Hewan Penelitian (UPHP) Universitas Negeri Semarang.

3.2.2. Sampel

3.2.2.1. Cara Pengambilan Sampel

Sampel penelitian diperoleh secara *simple random sampling* dengan kriteria sebagai berikut :

Kriteria inklusi :

1. Tikus wistar jantan.
2. Umur 3 bulan.
3. Berat badan 200 – 250 gram.
4. Kondisi sehat (aktif dan tidak cacat)

Kriteria eksklusi :

1. Jika pada otopsi ditemukan kelainan bawaan yang dapat mempengaruhi hasil pemeriksaan.

2. Tikus tidak bergerak secara aktif.
3. Tikus mati selama masa penelitian.
4. Bobot tikus turun. (kurang dari 200 gram).
5. Tikus mengalami diare selama penelitian berlangsung.

3.2.2.2. Besar Sampel

Besar sampel ditentukan berdasarkan standar WHO yaitu minimal lima ekor sampel untuk setiap kelompok perlakuan. Pada penelitian ini terdapat lima kelompok perlakuan. Oleh karena itu, diperlukan minimal 25 ekor sampel. Untuk penelitian ini, peneliti menggunakan 35 ekor tikus wistar dengan 7 ekor tikus wistar untuk tiap – tiap kelompok perlakuan.

3.3. Data

3.3.1. Variabel Penelitian

3.3.1.1. Variabel Bebas

Pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp.

Skala : rasio

3.3.1.2. Variabel Tergantung

Jumlah limfosit

Skala : rasio

3.3.2. Data yang Dikumpulkan

Data yang dikumpulkan pada penelitian ini berupa data primer, yaitu jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

3.4. Instrumen

3.4.1. Alat

1. Kandang untuk hewan percobaan.
2. Alat untuk membunuh tikus di akhir percobaan.
3. Blender yang digunakan untuk ekstraksi *Eucheuma* sp.
4. Mikroskop cahaya untuk menghitung jumlah limfosit.

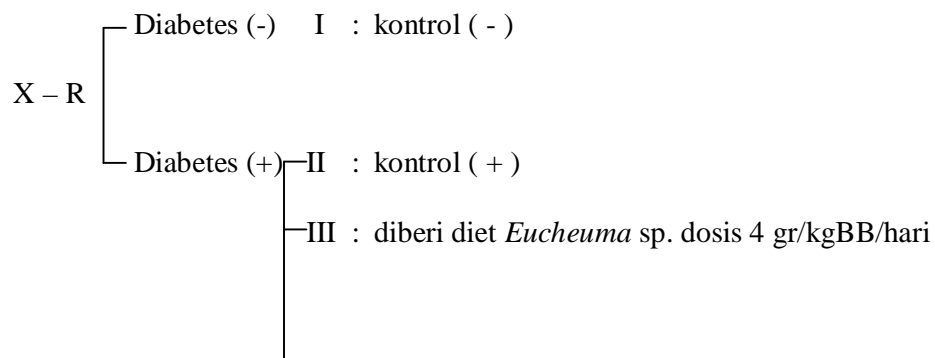
3.4.2. Bahan

1. Tikus wistar jantan.
2. Aloksan untuk induksi diabetes pada tikus wistar.
3. Rumput laut *Eucheuma* sp.
4. Makanan dan minuman untuk hewan percobaan.
5. Bahan – bahan untuk pemeriksaan jumlah limfosit.

3.5. Cara Pengumpulan Data

Penelitian ini menggunakan sampel sebanyak 35 ekor tikus wistar jantan. Tikus tersebut dibagi dalam lima kelompok sehingga tiap – tiap kelompok terdiri dari tujuh ekor sampel.

Masing – masing kelompok akan diperlakukan sebagai berikut :



—IV : diberi diet *Eucheuma* sp. dosis 8 gr/kgBB/hari

—V : diberi diet *Eucheuma* sp. dosis 12 gr/kgBB/hari

Keterangan :

X – R : masa adaptasi selama 1 minggu.

Diabetes (-) : tikus tidak diinduksi diabetes.

Diabetes (+) : tikus diinduksi diabetes.

I : kelompok tikus tanpa diinduksi diabetes dan tidak mendapat perlakuan.

II : kelompok tikus yang diinduksi diabetes dan tidak mendapat perlakuan.

III : kelompok tikus yang diinduksi diabetes dan diberi diet *Eucheuma* sp. dosis 4 gr/kgB/hari.

IV : kelompok tikus yang diinduksi diabetes dan diberi diet *Eucheuma* sp. dosis 8 gr/kgB/hari.

V : kelompok tikus yang diinduksi diabetes dan diberi diet *Eucheuma* sp. dosis 12 gr/kgB/hari.

Tikus wistar sebanyak 35 ekor yang memenuhi kriteria inklusi diaklimasi di dalam laboratorium. Masing – masing dikandangkan secara individual serta diberi makanan dan minuman selama 1 minggu.

Tikus wistar tersebut kemudian dibagi dalam lima kelompok secara acak sehingga tiap – tiap kelompok terdiri dari 7 ekor tikus. Kemudian empat kelompok selain kontrol negatif diinduksi DM. Perlakuan berbeda diberikan pada tiap kelompok selama 63 hari kecuali kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

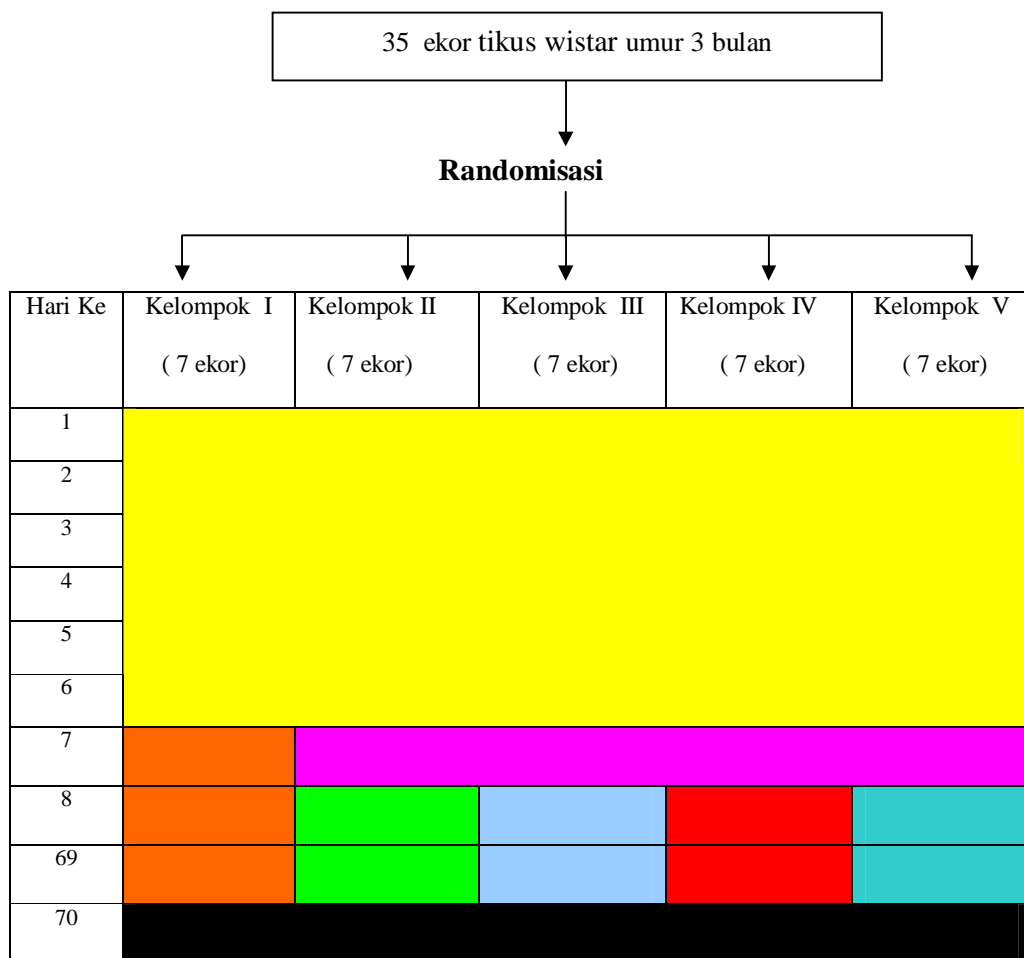
Tikus wistar kemudian diterminasi pada hari ke-70. Sampel dari masing-masing tikus diambil untuk dilakukan pemeriksaan terhadap jumlah limfosit. Sampel diambil dengan cara mengambil sampel darah dari vena abdominalis.

Penghitungan jumlah limfosit dilakukan dengan cara *diff count* yang diperoleh dengan menghitung prosentase jumlah limfosit dari 100 leukosit. Prosentase yang diperoleh dikalikan dengan jumlah total leukosit yang diperoleh melalui *blood analyzer*. Jumlah limfosit merupakan hasil dari perkalian tersebut. Jumlah limfosit kemudian dinyatakan dalam ($\times 10^3 / \mu\text{L}$).

Teknik Pembuatan Tepung Rumput Laut






Pembuatan tepung rumput laut dilakukan di SP3T UNDIP. Metode yang digunakan adalah metode maserasi. Sampel rumput laut segar yang telah dikoleksi dari laut sebanyak ± 2 kg selanjutnya dibersihkan menggunakan air bersih untuk menghilangkan pasir dan kotoran yang menempel lalu dimasukkan ke dalam wadah. Kemudian rumput laut dikeringkan di udara terbuka dengan sinar matahari tidak langsung selama 1 jam. Setelah itu, rumput laut dipotong menjadi bagian – bagian yang kecil. Selanjutnya dibuat dalam bentuk serbuk dengan derajat kehalusan tertentu menggunakan blender. ^{xliv}

3.6. Alur Penelitian



Keterangan :

- : Pemeliharaan (adaptasi) diet standar 1 minggu *ad libitum*
- : Ditimbang, didiabeteskan, diet sesuai kelompok
- : Diet standar, tidak diberikan diet *Eucheuma* sp.

-  : Diet standar, tidak diberikan diet *Eucheuma* sp.
-  : Diet standar + diet *Eucheuma* sp. 4 gr/kg BB/hari
-  : Diet standar + diet *Eucheuma* sp. 8 gr/kg BB/hari
-  : Diet standar + diet *Eucheuma* sp. 12 gr/kg BB/hari
-  : Terminasi Tikus putih dan pemeriksaan jumlah limfosit

3.7. Definisi Operasional

3.7.1. Induksi Diabetik pada Sampel

Tikus dikondisikan diabetik ekperimental (hiperglikemik) melalui pemberian suntikan aloksan monohidrat secara intraperitoneal. Aloksan merupakan suatu derivat pirimidin sederhana yang menyebabkan kerusakan substansi essensial dan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel β – pankreas. Oleh karena itu, pemberian aloksan dalam dosis tertentu dapat menyebabkan destruksif selektif pada sel β – pankreas. Tikus diabetik diperoleh dengan menginjeksikan 120 – 150 mg / kgBB. Dalam percobaan ini aloksan yang disuntikkan pada tikus sebesar 125 mg / kgBB. ^{x,xi}

3.7.2. Diet Rumput Laut

Diet rumput laut *Eucheuma* sp. yang diberikan pada tikus wistar terdiri dari berbagai dosis yaitu 4 gr/kgBB, 8 gr/kgBB, dan 12 gr/kgBB. Pemilihan dosis ini didasarkan pada penelitian sebelumnya, dimana dengan pemberian dosis ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. sebesar 1 gr/kgBB; 1,25 gr/kgBB; 1,5 gr/kgBB telah terbukti mampu menurunkan kadar glukosa darah. Oleh karena itu, pada penelitian ini digunakan dosis yang lebih tinggi dikarenakan diet yang diberikan

bukan dalam bentuk ekstrak melainkan berupa tepung rumput laut *Eucheuma* sp. dan sekaligus untuk mengetahui apakah dengan pemberian dosis yang semakin besar maka akan berbanding lurus dengan efeknya. ^{x,xi}

3.7.3. Jumlah Limfosit

Jumlah limfosit adalah prosentase jumlah limfosit yang terdapat pada sampel darah yang dihitung dengan cara *diff count* kemudian dikalikan dengan jumlah total leukosit dan dinyatakan dalam ($\times 10^3 / \mu\text{L}$).

3.8. Cara Analisis Data

3.8.1. Cara pengolahan data

Tahap-tahap pengolahan data adalah sebagai berikut :

- a. Tahap editing, yakni dengan mengedit data yang tersedia.
- b. Tahap cleaning data, untuk meneliti kembali kesalahan-kesalahan yang mungkin terjadi.
- c. Tahap tabulasi data, yakni dengan menyajikan data dalam tabel yang telah disediakan.

3.8.2. Analisis data

Analisis data dilakukan dengan menggunakan *SPSS 15.00 for windows*. Langkah pertama yakni melakukan uji normalitas distribusi dengan uji *Shapiro-wilk*. Karena terdistribusi normal maka selanjutnya dilakukan uji parametrik dengan uji *Independent Anova*.. *True confidences* uji ini adalah 95%,

sehingga jika $p < 0,05$ maka dapat disimpulkan terdapat perbedaan bermakna. Setelah itu dilakukan uji *Post Hoc* untuk menganalisis kelompok mana yang memiliki perbedaan bermakna.

BAB 4

HASIL PENELITIAN

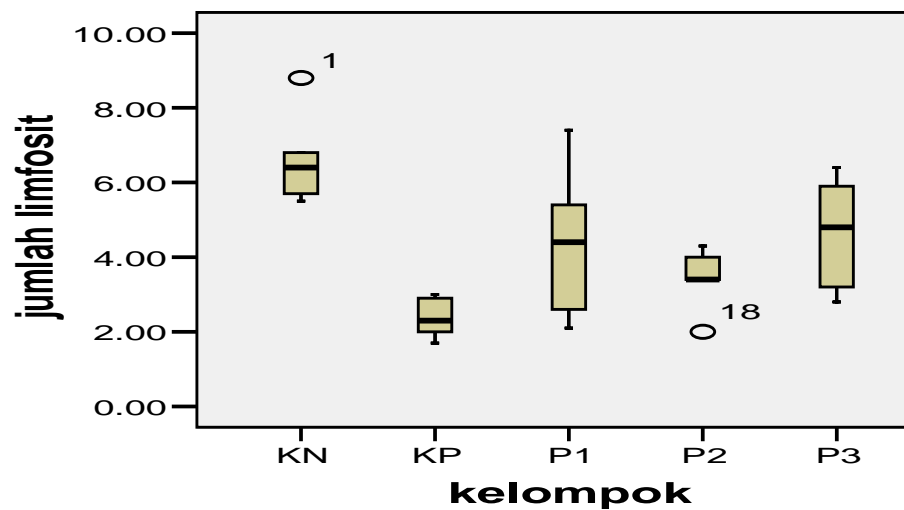
Pada awal penelitian, jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi adalah 35 ekor tikus yang kemudian dirandomisasi menjadi tujuh ekor pada masing – masing kelompok penelitian. Akan tetapi, jumlah sampel yang memenuhi kriteria inklusi sampai dengan akhir penelitian yaitu 27 ekor tikus wistar, terdiri atas tujuh ekor pada kelompok kontrol negative (KN) dan masing – masing lima ekor pada kelompok kontrol positif (KP), kelompok perlakuan pertama (P1), kelompok perlakuan kedua (P2), dan kelompok perlakuan ketiga (P3). Kematian tikus pada kelompok KP, P1, P2, dan P3 diduga karena sakit dan juga akibat kesalahan prosedur saat pengambilan darah sehingga darah tidak bisa diambil dari sampel. Kemudian, untuk mencapai keseimbangan jumlah data antar kelompok penelitian, maka dilakukan pemilihan secara acak pada data dari kelompok KN sehingga data penelitian yang digunakan adalah 25 ekor tikus wistar dengan masing-masing kelompok sebanyak 5 ekor tikus.

Dari kelima kelompok penelitian, didapatkan data limfosit sebagai berikut:

Tabel 1. Rerata (mean) dan standar deviasi (SD) jumlah limfosit (dalam $10^3/\mu\text{L}$)

Kelompok	N	mean	SD	Nilai Min	Nilai Max
----------	---	------	----	-----------	-----------

KN	5	6.64	± 1.32	5.50	8.80
KP	5	2.38	± 0.56	1.70	3.00
P1	5	4.38	± 2.15	2.10	7.40
P2	5	3.42	± 0.88	2.00	4.30
P3	5	4.62	± 1.59	2.80	6.40



Gambar 6. Boxplot rerata jumlah limfosit

Tabel 1 dan gambar 6 menunjukkan nilai rerata (mean) jumlah limfosit (dalam $10^3/\mu\text{L}$) tikus wistar pada setiap kelompok perlakuan. Rerata jumlah limfosit pada kelompok KN menunjukkan jumlah yang paling tinggi dibanding kelompok lain dan rerata jumlah limfosit kelompok KP menunjukkan nilai yang paling rendah. Dibandingkan dengan kelompok KP, dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan rerata jumlah limfosit pada kelompok tikus yang diberi ekstrak rumput laut, yaitu kelompok P1, P2 dan P3, meskipun peningkatannya tidak

berbanding lurus dengan peningkatan dosis ekstrak rumput laut yang diberikan pada masing-masing kelompok.

Proses pengolahan data diawali dengan uji normalitas data. Uji normalitas data dilakukan dengan uji *Saphiro-wilk* menunjukkan bahwa data jumlah limfosit terdistribusi dengan normal ($p > 0.05$) dan hasil uji homogenitas varian juga didapatkan varian data yang homogen dengan nilai signifikan $p = 0.121$ ($p > 0.05$). Dengan demikian, dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way Anova*. Dari uji parametrik *One Way Anova* didapatkan nilai signifikan $p = 0.002$ ($p < 0.05$) yang mengindikasikan bahwa setidaknya terdapat perbedaan bermakna di antara dua kelompok. Kemudian untuk dapat melihat nilai signifikan perbedaan antar kelompok tersebut, maka dilakukan uji *Post hoc LSD*.

Tabel 2. Uji Post Hoc untuk jumlah limfosit antar kelompok penelitian

	KN	KP	P1	P2	P3
KN	-	0.000*	0.020*	0.002*	0.035*
KP	0.000*	-	0.037*	0.259	0.021*
P1	0.020*	0.037*	-	0.296	0.791
P2	0.002*	0.259	0.296	-	0.195
P3	0.035*	0.021*	0.791	0.195	-

Tabel 2 memperlihatkan hasil uji *Post Hoc* antar kelompok perlakuan, Kelompok KN menunjukkan berbeda bermakna dengan kelompok KP ($p=0.00$), kelompok P1 ($p=0.020$), kelompok P2 ($p=0.002$) dan kelompok P3 ($p=0.035$).

Kelompok KP memperlihatkan berbeda bermakna dengan kelompok P1 ($p=0.037$) dan kelompok P3 ($p=0.021$). Selebihnya tidak menunjukkan beda yang bermakna.

BAB 5

PEMBAHASAN

Berdasarkan data yang diperoleh dari tabel 1 dan gambar 6 menunjukkan bahwa terjadi penurunan rerata jumlah limfosit yang bermakna pada kelompok tikus kontrol positif dibandingkan dengan kelompok kontrol negatif sebesar 4.260 sel/mL. Ini menunjukkan bahwa aloksan memiliki efek dalam menurunkan jumlah limfosit tikus wistar secara bermakna.

Penurunan limfosit yang terjadi pada tikus yang diinduksi aloksan (kelompok kontrol positif) disebabkan oleh karena aloksan merupakan senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan substansi esensial dan berkurangnya granula – granula pembawa insulin di dalam sel β – pankreas. Oleh karena itu, pemberian aloksan dalam dosis tertentu dapat menyebabkan destruktif selektif pada sel β – pankreas. Kerusakan tersebut bersifat ireversibel dan mengakibatkan tidak terproduksinya insulin yang berfungsi mengubah glukosa darah menjadi glikogen.^{x,xi} Dengan demikian, maka kadar glukosa darah dapat meningkat sampai pada keadaan hiperglikemi. Kadar hiperglikemi yang tinggi menyebabkan

terganggunya keseimbangan metabolisme sel-sel tubuh, termasuk limfosit. Keadaan hiperglikemik pada diabetes dimana kadar glukosa darah sangat tinggi memicu peningkatan radikal bebas yang berlebihan hingga mengakibatkan suatu keadaan yang disebut stres oksidatif. Stres oksidatif ini mengakibatkan kerusakan pada sel limfosit melalui mekanisme gangguan pada membran sel limfosit, apoptosis, dan fragmentasi DNA dari inti sel limfosit. Semua mekanisme ini mengakibatkan penurunan jumlah limfosit yang beredar dalam tubuh. Dengan demikian, secara kuantitas jumlah limfosit mengalami penurunan. ^{v,vi,vii,ix}

Berdasarkan hasil uji parametrik *One Way Anova* dan uji *Post Hoc* antarkelompok didapatkan bahwa terdapat perbedaan bermakna antara rerata jumlah limfosit pada kelompok tikus wistar yang diinduksi diabetes aloksan dan diberi diet rumput laut *Eucheuma* sp. dibandingkan dengan kelompok tikus wistar yang diinduksi diabetes aloksan tanpa pemberian rumput laut (kelompok kontrol positif). Perbedaan bermakna ini terdapat pada pemberian dosis rumput laut sebesar 4 gr/kgBB/hari dan 12 gr/kgBB/hari. Hal tersebut dapat dilihat pada tabel 2. Pada kedua dosis rumput laut tersebut terjadi peningkatan rerata jumlah limfosit yang berbanding lurus dengan besarnya dosis diet rumput laut.

Namun, pada kelompok perlakuan kedua (P2) yaitu pada pemberian dosis rumput laut sebesar 8 gr/kgBB/hari tidak menunjukkan beda bermakna dengan kelompok kontrol positif. Bahkan pada pemberian dosis rumput laut *Eucheuma* sp. sebesar 8 gr/kgBB/hari tersebut terjadi penurunan rerata jumlah limfosit dibandingkan pada pemberian dosis 4 gr/kgBB/hari. Ketidakselarasan peningkatan rerata jumlah limfosit antara kelompok P2 dengan P1 dan P3 diduga

dipengaruhi oleh cara pemberian diet. Pada penelitian ini pemberian diet tepung rumput laut *Eucheuma* sp. tidak diberikan dengan sonde dikarenakan rumput laut mengembang saat akan dimasukkan ke dalam saluran cerna tikus. Karena kesulitan dalam pemberian diet rumput laut dengan sonde, maka pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. diberikan dengan mencampur tepung rumput laut *Eucheuma* sp. dalam pakan tikus. Pemberian diet dengan cara tersebut memungkinkan tidak masuknya seluruh rumput laut *Eucheuma* sp. ke dalam tikus sesuai dengan dosis yang telah ditentukan sehingga tidak diperoleh efek yang optimal.

Dengan menganalisis data yang terdapat dari tabel 1 dan 2, dapat dilihat bahwa kenaikan rerata jumlah limfosit ini tidak dapat mencapai rerata jumlah limfosit kelompok tikus kontrol negatif (kelompok tikus dengan jumlah limfosit normal), bahkan memiliki selisih beda yang bermakna berdasarkan uji *Anova*. Dengan demikian, pemberian diet rumput laut dengan dosis 4gr/kgBB/hari, 8gr/kgBB/hari, dan 12 gr/kgBB/hari pada tikus wistar dengan diabetes aloksan dapat meningkatkan rerata jumlah limfosit, namun tidak mampu menaikkan jumlah limfosit sampai batas normal. Oleh karena itulah, untuk penelitian selanjutnya sebaiknya digunakan variasi dosis yang lebih banyak dan dalam rentang dosis yang lebih besar agar bisa didapatkan dosis yang efektif dalam meningkatkan jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan.

Peningkatan rerata jumlah limfosit pada tikus wistar yang diberi diet rumput laut *Eucheuma* sp. disebabkan karena rumput laut *Eucheuma* sp. mempunyai kandungan karagenan sebagai senyawa serat larut air pengikat kation

yang sangat tinggi. Karagenan merupakan serat makanan pengikat kation (*binding of cations*) yang akan mengubah pH intestinum dengan cara mempengaruhi sekresi asam dan basa lewat pengaruh hormon dan enzim. Hal ini akan mempengaruhi proses pemecahan karbohidrat (disakarida) di dalam intestinum yang akhirnya juga akan mempengaruhi proses penyerapan monosakarida, sehingga dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial. Efek karagenan dalam menurunkan kadar glukosa juga disebabkan karena kemampuan karagenan dalam menyerap air yang sangat besar dengan membentuk gel atau larutan kental. Dengan demikian, penyerapan glukosa ke dalam usus menjadi terhambat.^{x,xi,xxiii}

Melalui mekanisme penghambatan penyerapan glukosa yang telah dijelaskan di atas dapat menahan laju peningkatan kadar glukosa darah post – prandial. Pencegahan keadaan hiperglikemik ini tentunya dapat menyebabkan tidak terjadinya pembentukan radikal bebas berlebih. Dengan demikian, stress oksidatif yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel limfosit dapat dihindari.

Selain karagenan yang merupakan komponen utama, *Eucheuma* sp. juga mengandung nutrisi penting bagi tubuh, antara lain asam amino (leusin, arginin, lisin, treonin, valin, isoleusin, dan fenil alanin), mineral (zinc, iodium, sulfur, calsium, selenium, sulfur), vitamin A (beta karoten), B1 (tiamin), B2 (riboflacin), asam folat, niasin, asam pantotenat, vitamin C, dan vitamin E.^{xix,xxiv}

Vitamin E (alfa tokoferol) merupakan pertahanan baris pertama terhadap peroksidasi asam lemak tak jenuh ganda yang terdapat didalam fosfolipid membran selular dan subselular. Tokoferol berfungsi sebagai antioksidan,

memutus berbagai reaksi rantai radikal bebas karena kemampuannya memindahkan hidrogen fenolat kepada radikal bebas peroksil asam lemak tak jenuh ganda yang terperoksidasi.^{xl,xlii}

Vitamin C dapat bertindak sebagai antioksidan umum yang larut air, dengan cara mereduksi tokoferol teroksidasi didalam membran sehingga membantu fungsi tokoferol sebagai pertahanan baris pertama dalam proses peroksidasi lipid.^{xl,xli,xlii}

Rumput laut juga mengandung selenium (Se) yang merupakan salah satu komponen integral dari glutathion peroksidase, membentuk pertahanan baris kedua terhadap peroksida sebelum senyawa tersebut dapat merusak membran dan komponen sel lain. Dengan demikian tokoferol dan selenium bekerja sinergis dalam melawan peroksida lipid.^{xl,xlii}

Eucheuma sp. juga mengandung prekursor vitamin A, β - karoten juga berperan dalam mengatasi radikal bebas seperti singlet oksigen (IO_2) dan superoksida (O_2^-) mealui kemampuannya dalam menstabilkan radikal bebas peroksida di dalam struktur alkil terkonjugasinya. Selain itu, vitamin A juga diketahui turut serta membantu memperbaiki sintesis protein dan permeabilitas membran sel.^{xl,xlv}

Adanya kandungan vitamin C, Vitamin E, Selenium (Se), dan β -karoten pada *Eucheuma* sp. yang berperan sebagai antioksidan, maka radikal bebas berlebih yang telah terbentuk dapat dinetralisir. Mekanisme ini juga berperan dalam mencegah stres oksidatif terhadap sel limfosit pada keadaan diabetes. Dengan demikian, kerusakan sel limfosit yang berakibat pada penurunan jumlah

limfosit dapat dicegah. Selain itu, kandungan yang terdapat dari rumput laut juga memiliki efek dalam menginduksi proliferasi limfosit. Oleh karena itulah, dapat terjadi peningkatan jumlah limfosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan yang diberi diet ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp.^{xi,xli,xlii,xlvi}

BAB 6

PENUTUP

6.1. KESIMPULAN

Pemberian diet rumput laut *Eucheuma* sp. dengan dosis 4 gr/KgBB/hari, 8 gr/KgBB/hari, dan 12 gr/KgBB/hari dapat meningkatkan jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan. Pada dosis 4 gr/kgBB/hari dan 12 gr/kgBB/hari, terjadi peningkatan jumlah limfosit yang bermakna dibanding kelompok tikus dengan diabetes aloksan yang tidak diberi diet rumput laut dan dengan peningkatan dosis tersebut dapat semakin meningkatkan jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan, dimana dengan dosis 12 gr/kgBB/hari terjadi peningkatan jumlah limfosit yang lebih tinggi dibanding dosis 4 gr/kgBB/hari. Akan tetapi, pada dosis 8 gr/kgBB/hari peningkatan jumlah limfosit tidak menunjukkan perbedaan bermakna dibanding kelompok kontrol positif. Pada dosis tersebut, peningkatan jumlah limfositnya bahkan lebih rendah dibanding kelompok tikus yang diberi dosis rumput laut 4 gr/kgBB/hari. Walaupun demikian, dari ketiga dosis rumput laut tersebut telah menunjukkan terjadinya peningkatan jumlah limfosit pada tikus wistar dengan diabetes aloksan.

6.2. SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh pemberian diet *Eucheuma* sp. terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes , dengan variasi dosis yang lebih banyak, dalam rentang dosis yang lebih besar, dan perhitungan dosis yang lebih akurat serta dengan jumlah sampel yang lebih banyak.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gustaviani R. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam . Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006 :1879 – 81.
2. Abbas AK, Maitra A. The Endocrine System. In: Kumar V, Abbas AK, Nelson F. Robbins and Cotran Pathologics Basis of Disease.7th ed. Philadelphia, USA : Elsevier Saunders, 2005 : 1155 – 1224.
3. Suyono S. Diabetes Mellitus di Indonesia. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam . Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006 :1874 – 78.
4. Departemen Kesehatan. Diabetes Mellitus Masalah Kesehatan Masyarakat Yang Serius Dari Website Depkes. [Internet]. [cited 2009 January 26]. Available from: <http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=942&Itemid=2>
5. Ptak W, Hanczakowska M, Rozycka R, Rozycka D. Impaired Antibody Responses in Alloxan Diabetic Mice. Clin exp Immunol 1977; 29(1):140-146.
6. Otton R, Mendonca JR, Curi R. Diabetes Causes Marked Changes in Lymphocyte Metabolism. Journal of Endocrinology 2002; 174: 55-61.

7. Fu MC, Jack CRT, Dao MC, Shyi JS, Yau JL. Peripheral Total and Differential Leukocyte Count in Diabetic Nephropathy. *Diabetes Care* 2005; 28(7): 1710-17.
8. Wolff S P. Free Radicals, Transition metals and Oxidative Stress in Aetiology of Diabetes Mellitus and Complications. *British Medical Bulletin* 1993; 49(3) : 642-652.
9. Otton R, Soriano FG, Verlengia R, Curi R. Diabetes Induces Apoptosis in Lymphocytes. *Journal of Endocrinology* 2004; 182: 145-146.
10. Nugroho BA, Puwaningsih E. Pengaruh Diet Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma* sp.) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik. *Media Medika Indonesia* Vol.39 No. 3, 2004 : 154 – 60.
11. Nugroho BA, Puwaningsih E. Perbedaan Diet Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma* sp.) dan Insulin dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik. *Media Medika Indonesia* Vol. 41 No. 1, 2006 : 23-30.
12. Bray TM. Antioxidants, NF- κ B Activation, and Diabetogenesis. *PSEBM* 1999; 222: 205-213.
13. Aslan LM. Budidaya Rumput Laut cetakan ke – 1. Yogyakarta : Penerbit Kanisius, 1991.
14. Poncomulyo T, Maryani H, Kristiani L. Budidaya dan Pengolahan Rumput Laut cetakan ke- 1. Jakarta : Agro Media Pustaka, 2006.
15. Andraeni F. Pengaruh Ekstrak *Euchema* sp. Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. Semarang : Universitas Diponegoro, 2005 : 11 – 15. Disertasi.
16. Afrianto,E. dan Liviawaty,E. Budidaya Rumput Laut dan Cara Pengolahannya. Jakarta : Pustaka Desa.1993.

17. Putra SE. Alga Laut Sebagai Biotarget Industri. [internet]. [cited 2008 Januari] Available from URL : <http://www.chem-istry.org/?sect=fokus&ext=24>.
18. Pringgenies D, Rudiana E, Pujiastuti MJ. Measurement of Iodium Content of Some Seaweed from Jepara Coastal Waters. UNDIP Newsletter Vol VII No.12, 2005 : 6.
19. Apritna A. Nutrisi, Nilai per 100 gram porsi makanan. [internet]. [Cited 2008 January 17]. Available from URL : <http://www.asiamaya.com/nutrients/rumputlautmentah.htm>.
20. Lobban CS, Harrison PJ. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge, United Kingdom : Cambridge University Press, 1997 : 146 – 51.
21. Departemen Kelautan dan Perikanan. Produk Olahan Rumput Laut di Indonesia. [internet]. [cited January 17, 2008]. Available from URL : <http://www.dkp.go.id/content.php?c=3197>.
22. Istini S, Zatnika, A, Suhaimi. Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut. [internet]. [cited 2008 January 17]. Available from: URL : <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB882E/AB882E14.htm>.
23. Wikanti T, Khaeroni, Rahayu L. Pengaruh Pemberian Natrium Alginat terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 8 No. 6, 2002 : 21 – 32.
24. Wirjatmadi B, Adriani M, Purwanti S. Pemanfaatan Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) dalam Meningkatkan Nilai Kandungan Serat dan Yodium Tepung Terigu dalam Pembuatan Mi Basah. Jurnal Penelitian Medika Eksakta Vol.3 No.1, 2002 : 89 – 104.
25. Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmomartono FS. Naskah Lengkap Diabetes Mellitus Ditinjau dari Berbagai Aspek Penyakit Dalam. Jakarta : Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 2007: 15-27.
26. Gustaviani R. Diagnosis dan klasifikasi diabetes mellitus. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1857.

27. Price AS, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Jakarta : EGC, 2005: 1259-1274.
28. Schteigart DE. Pankreas: metabolisme glukosa dan diabetes mellitus. Dalam: Price SA, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Volume 1. Alih Bahasa: Pendit BU, Hartanto H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta: EGC, 2005: 247-67.
29. Molina EP. Endocrine pancreas. In: Lange endocrine physiology (book on CD-ROM). 2nd ed by Vishal. The Mc Graw-Hills Companies; 2007.
30. Mayes P A. Biokimia. Spesies Oksigen Reaktif Dapat (ROS) dapat Memacu Penyakit. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 619-20.
31. Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82;2002:47-95.
32. Proctor PH, Reynolds ES. Free Radicals and Disease in Man. *Physiol Chem Phys Med.* 16;1984:175-95.
33. Araujo V, Arnal C, Boronat M, et.al. oxidant-anti oxidant imbalance in blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Bio Factor.* 8;1998:155-9.
34. Allen RG, Tressini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biol Med.* 28;2000:463-99.
35. Djokomoeljanto R. Neuropati diabetik. Dalam: Naskah lengkap diabetes mellitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit dalam. Editor: Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmodarmono FS. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 2007:4-9.
36. Jusman SWA. Konsep-konsep dasar biokimia dalam diabetes mellitus. Dalam understanding icular diabetic-basic science, clinical aspect and didactic course. FKUI; 1999:1-15.
37. Lorenzi M. The Polyol Pathway as a Mechanism for Diabetic Retinopathy: Attractive, Elusive, and Resilient. *Experimental Diabetes Research* Volume 2007; 1-10.

38. Sodeman. Pathologic Physiology Mechanism of Disease. Edisi ke-7. Jakarta : Hipokrates, 1995 ; 228-303.
39. Apritna A. Nutrition Facts on Seaweed Dried. [Internet]. [cited 2009 July 20]. Available from : URL : <http://www.nutritiondata.com/>
40. Mayes PA. Struktur dan Fungsi Vitamin Larut Lipid. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 613 – 22.
41. Mayes PA. Struktur dan Fungsi Vitamin Larut Air. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 598 – 612.
42. Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol. 2005 April 29; 4(5). Available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?iid=18041>
43. Szkudelski T. The Mechanim of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. Physiol Res 2001; 50: 536-546.
44. Trianto A. Petunjuk Praktikum Eksplorasi dan Eksploitasi Sumber Daya Hayati Laut. Semarang : Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan UNDIP, 2001. (Unpublished)
45. Paiva SAR, Russell RM. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. [Internet]. 1999. [cited 2009 January 23]. Available from : URL : <http://www.jacn.org/cgi/content/full/18/5/426>
46. E Shan B, Y Yoshida, E Kuroda, U Yamashita. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. International journal of immunopharmacology 1999; 21: 59-70.

-
1. ⁱ Gustaviani R. Diagnosis dan Klasifikasi Diabetes Mellitus. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam . Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006 :1879 – 81.
 2. ⁱⁱ Abbas AK, Maitra A. The Endocrine System. In: Kumar V, Abbas AK, Nelson F. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease.7th ed. Philadelphia, USA : Elsevier Saunders, 2005 : 1155 – 1224.
 3. ⁱⁱⁱ Suyono S. Diabetes Mellitus di Indonesia. Dalam : Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam . Edisi IV. Jilid III. Jakarta : Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006 :1874 – 78.
 4. ^{iv} Departemen Kesehatan. Diabetes Mellitus Masalah Kesehatan Masyarakat Yang Serius Dari Website Depkes. [Internet]. [cited 2009 January 26]. Available from:

<http://www.depkes.go.id/index.php?option=news&task=viewarticle&sid=942&Itemid=2>

5. ^v Ptak W, Hanczakowska M, Rozycka R, Rozycka D. Impaired Antibody Responses in Alloxan Diabetic Mice. Clin exp Immunol 1977; 29(1):140-146.
6. ^{vi} Otton R, Mendonca JR, Curi R. Diabetes Causes Marked Changes in Lymphocyte Metabolism. Journal of Endocrinology 2002; 174: 55-61.
7. ^{vii} Fu MC, Jack CRT, Dao MC, Shyi JS, Yau JL. Peripheral Total and Differential Leukocyte Count in Diabetic Nephropathy. Diabetes Care 2005; 28(7): 1710-17.
8. ^{viii} Wolff S P. Free Radicals, Transition metals and Oxidative Stress in Aetiology of Diabetes Mellitus and Complications. British Medical Bulletin 1993; 49(3) : 642-652.
9. ^{ix} Otton R, Soriano FG, Verlengia R, Curi R. Diabetes Induces Apoptosis in Lymphocytes. Journal of Endocrinology 2004; 182: 145-146.
10. ^x Nugroho BA, Puwaningsih E. Pengaruh Diet Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma* sp.) terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik. Media Medika Indonesia Vol.39 No. 3, 2004 : 154 – 60.
11. ^{xi} Nugroho BA, Puwaningsih E. Perbedaan Diet Ekstrak Rumput Laut (*Eucheuma* sp.) dan Insulin dalam Menurunkan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Hiperglikemik. Media Medika Indonesia Vol. 41 No. 1, 2006 : 23-30.
12. ^{xii} Ho E, Bray TM. Antioxidants, NFκB Activation, and Diabetogenesis. PSEBM 1999; 222: 205-213.

-
13. ^{xiii} Aslan LM. Budidaya Rumput Laut cetakan ke – 1. Yogyakarta : Penerbit Kanisius, 1991.
 14. ^{xiv} Poncomulyo T, Maryani H, Kristiani L. Budidaya dan Pengolahan Rumput Laut cetakan ke- 1. Jakarta : Agro Media Pustaka, 2006.
 15. ^{xv} Andraeni F. Pengaruh Ekstrak *Euchema* sp. Terhadap Pertumbuhan *Chlorella* sp. Semarang : Universitas Diponegoro, 2005 : 11 – 15. Disertasi.
 16. ^{xvi} Afrianto, E. dan Liviawaty, E. Budidaya Rumput Laut dan Cara Pengolahannya. Jakarta : Pustaka Desa. 1993.
 17. . Putra SE. Alga Laut Sebagai Biotarget Industri. [internet]. [cited 2008 Januari] Available from URL : <http://www.chem-is-try.org/?sect=fokus&ext=24>.
 18. ^{xviii} Pringgenies D, Rudiana E, Pujiastuti MJ. Measurement of Iodium Content of Some Seaweed from Jepara Coastal Waters. UNDIP Newsletter Vol VII No.12, 2005 : 6.
 19. ^{xix} Apritna A. Nutrisi, Nilai per 100 gram porsi makanan. [internet]. [Cited 2008 January 17]. Available from URL : <http://www.asiamaya.com/nutrients/rumputlautmentah.htm>.
 20. ^{xx} Lobban CS, Harrison PJ. Seaweed Ecology and Physiology. Cambridge, United Kingdom : Cambridge University Press, 1997 : 146 – 51.
 21. ^{xxi} Departemen Kelautan dan Perikanan. Produk Olahan Rumput Laut di Indonesia. [internet]. [cited January 17, 2008]. Available from URL : <http://www.dkp.go.id/content.php?c=3197>.

-
22. ^{xxii} Istini S, Zatnika, A, Suhaimi. Manfaat dan Pengolahan Rumput Laut. [internet]. [cited 2008 January 17]. Available from: URL :<http://www.fao.org/docrep/field/003/AB882E/AB882E14.htm>.
23. ^{xxiii} Wikanti T, Khaeroni, Rahayu L. Pengaruh Pemberian Natrium Alginat terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus. Jurnal Penelitian Perikanan Indonesia Vol. 8 No. 6, 2002 : 21 – 32.
24. ^{xxiv} Wirjatmadi B, Adriani M, Purwanti S. Pemanfaatan Rumput Laut (*Eucheuma cottoni*) dalam Meningkatkan Nilai Kandungan Serat dan Yodium Tepung Terigu dalam Pembuatan Mi Basah. Jurnal Penelitian Medika Eksakta Vol.3 No.1, 2002 : 89 – 104.
25. ^{xxv} Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmomartono FS. Naskah Lengkap Diabetes Mellitus Ditinjau dari Berbagai Aspek Penyakit Dalam. Jakarta : Badan Penerbit Universitas Diponegoro, 2007: 15-27.
26. ^{xxvi} Gustaviani R. Diagnosis dan klasifikasi diabetes mellitus. Dalam: Sudoyo AW, Setyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Edisi IV. Jilid III. Jakarta: Pusat Penerbitan Departemen Ilmu Penyakit Dalam FKUI, 2006: 1857.
27. ^{xxvii} Price AS, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-proses Penyakit. Jakarta : EGC, 2005: 1259-1274.
28. ^{xxviii} Schteigart DE. Pankreas: metabolisme glukosa dan diabetes mellitus. Dalam: Price SA, Wilson LM. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Edisi 6. Volume 1. Alih Bahasa: Pendit BU, Hartanto H, Wulansari P, Mahanani DA. Jakarta: EGC, 2005: 247-67.

-
29. ^{xxix} Molina EP. Endocrine pancreas. In: Lange endocrine physiology (book on CD-ROM). 2nd ed by Vishal. The McGraw-Hill Companies; 2007.
30. ^{xxx} Mayes P A. Biokimia. Spesies Oksigen Reaktif Dapat (ROS) dapat Memacu Penyakit. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 619-20.
31. ^{xxxi} Droge W. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiol Rev.* 82;2002:47-95.
32. ^{xxxii} Proctor PH, Reynolds ES. Free Radicals and Disease in Man. *Physiol Chem Phys Med.* 16;1984:175-95.
33. ^{xxxiii} Araujo V, Arnal C, Boronat M, et.al. oxidant-anti oxidant imbalance in blood of children with juvenile rheumatoid arthritis. *Bio Factor.* 8;1998:155-9.
34. ^{xxxiv} Allen RG, Tressini M. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biol Med.* 28;2000:463-99.
35. ^{xxxv} Djokomoeljanto R. Neuropati diabetik. Dalam: Naskah lengkap diabetes mellitus ditinjau dari berbagai aspek penyakit dalam. Editor: Darmono, Suhartono T, Pemayun TGD, Padmodarmono FS. Semarang: Badan Penerbit Universitas Diponegoro. 2007:4-9.
36. ^{xxxvi} Jusman SWA. Konsep-konsep dasar biokimia dalam diabetes mellitus. Dalam understanding icular diabetic-basic science, clinical aspect and didactic course. FKUI; 1999:1-15.
37. ^{xxxvii} Lorenzi M. The Polyol Pathway as a Mechanism for Diabetic Retinopathy: Attractive, Elusive, and Resilient. *Experimental Diabetes Research Volume* 2007; 1-10.
38. ^{xxxviii} Sodeman. Pathologic Physiology Mechanism of Disease. Edisi ke-7. Jakarta : Hipokrates, 1995 ; 228-303.

-
39. ^{xxxix} Apritna A. Nutrition Facts on Seaweed Dried. [Internet]. [cited 2009 July 20]. Available from : URL : <http://www.nutritiondata.com/>
40. ^{xl} Mayes PA. Struktur dan Fungsi Vitamin Larut Lipid. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 613 – 22.
41. ^{xli} Mayes PA. Struktur dan Fungsi Vitamin Larut Air. Dalam : Murray RK, Granner DK, Mayes PA, Rodwell VW. Biokimia Harper. Edisi 25. Alih bahasa : Hartono A. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC, 2003 : 598 – 612.
42. ^{xlii} Johansen JS, Harris AK, Rychly DJ, Ergul A. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. Cardiovasc Diabetol. 2005 April 29; 4(5). Available from URL: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?iid=18041>
43. ^{xliii} Szkudelski T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of The Rat Pancreas. Physiol Res 2001; 50: 536-546.
44. ^{xliv} Trianto A. Petunjuk Praktikum Eksplorasi dan Eksploitasi Sumber Daya Hayati Laut. Semarang : Jurusan Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Kelautan UNDIP, 2001. (Unpublished)
45. ^{xlv} Paiva SAR, Russell RM. β -Carotene and Other Carotenoids as Antioxidants. [Internet]. 1999. [cited 2009 January 23]. Available from : URL : <http://www.jacn.org/cgi/content/full/18/5/426>
46. ^{xlvi} E Shan B, Y Yoshida, E Kuroda, U Yamashita. Immunomodulating activity of seaweed extract on human lymphocytes in vitro. International journal of immunopharmacology 1999; 21: 59-70.

LAMPIRAN 1

DATA DASAR HASIL PEMERIKSAAN JUMLAH LIMFOSIT

Hasil pemeriksaan jumlah limfosit tikus wistar (dalam $10^3/\mu\text{L}$)

Sampel	Kontrol Negatif (KN)	Kontrol Positif (KP)	Perlakuan 1 (P1)	Perlakuan 2 (P2)	Perlakuan 3 (P3)
Tikus 1	8,80	2,00	5,40	4,00	2,80
Tikus 2	5,70	1,70	4,40	3,40	3,20
Tikus 3	6,40	2,90	2,60	2,00	4,80
Tikus 4	5,50	2,30	2,10	3,40	6,40
Tikus 5	6,80	3,00	7,40	4,30	5,90

LAMPIRAN 2

OUTPUT SPSS

LAMPIRAN 1
DATA DASAR HASIL PEMERIKSAAN JUMLAH LIMFOSIT

Hasil pemeriksaan jumlah limfosit tikus wistar (dalam $10^3/\mu\text{L}$)

Sampel	Kontrol Negatif (KN)	Kontrol Positif (KP)	Perlakuan 1 (P1)	Perlakuan 2 (P2)	Perlakuan 3 (P3)
Tikus 1	8,80	2,00	5,40	4,00	2,80
Tikus 2	5,70	1,70	4,40	3,40	3,20
Tikus 3	6,40	2,90	2,60	2,00	4,80
Tikus 4	5,50	2,30	2,10	3,40	6,40
Tikus 5	6,80	3,00	7,40	4,30	5,90

LAMPIRAN 2

OUTPUT SPSS

Explore

Jumlah Sampel Tiap Kelompok

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
jumlah limfosit	KN	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	KP	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P1	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P2	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%
	P3	5	100.0%	0	.0%	5	100.0%

Descriptives

Analisa deskripsi pengaruh pemberian diet ekstrak rumput laut *Eucheuma* sp. terhadap jumlah limfosit tikus wistar dengan diabetes aloksan

kelompok			Statistic	Std. Error
jumlah limfosit	KN	Mean	6.6400	.58873
		95% Confidence Interval for Mean	5.0054	
		Lower Bound	8.2746	
		Upper Bound	6.5833	
		5% Trimmed Mean	6.4000	
		Median	1.733	
		Variance	1.31643	
		Std. Deviation	5.50	
		Minimum	8.80	
		Maximum	3.30	
	KP	Range	2.20	.913
		Interquartile Range	1.417	
		Skewness	2.090	
		Kurtosis	2.3800	
		Mean	1.6809	
		95% Confidence Interval for Mean	3.0791	.25179
		Lower Bound	2.3833	
		Upper Bound	2.3000	
		5% Trimmed Mean		
		Median		

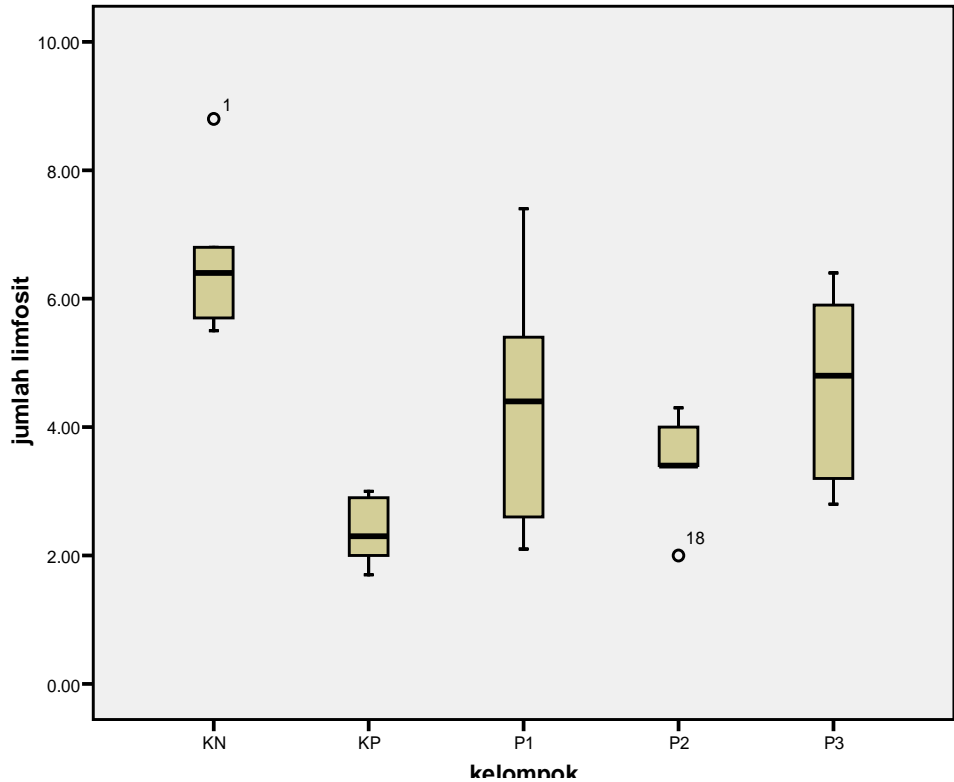
P1	Variance		.317	
	Std. Deviation		.56303	
	Minimum		1.70	
	Maximum		3.00	
	Range		1.30	
	Interquartile Range		1.10	
	Skewness		.021	.913
	Kurtosis		-2.333	2.000
	Mean		4.3800	.96250
	95% Confidence	Lower Bound	1.7077	
	Interval for Mean	Upper Bound	7.0523	
	5% Trimmed Mean		4.3389	
	Median		4.4000	
	Variance		4.632	
P2	Std. Deviation		2.15221	
	Minimum		2.10	
	Maximum		7.40	
	Range		5.30	
	Interquartile Range		4.05	
	Skewness		.464	.913
	Kurtosis		-.931	2.000
	Mean		3.4200	.39547
	95% Confidence	Lower Bound	2.3220	
	Interval for Mean	Upper Bound	4.5180	
	5% Trimmed Mean		3.4500	
	Median		3.4000	
	Variance		.782	
	Std. Deviation		.88431	
	Minimum		2.00	
P3	Maximum		4.30	
	Range		2.30	
	Interquartile Range		1.45	
	Skewness		-1.197	.913
	Kurtosis		1.768	2.000
	Mean		4.6200	.71302
	95% Confidence	Lower Bound	2.6403	
	Interval for Mean	Upper Bound	6.5997	
	5% Trimmed Mean		4.6222	
	Median		4.8000	
	Variance		2.542	
	Std. Deviation		1.59437	
	Minimum		2.80	
	Maximum		6.40	
	Range		3.60	
	Interquartile Range		3.15	
	Skewness		-.118	.913
	Kurtosis		-2.630	2.000

Tests of Normality						
kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah limfosit KN	.252	5	.200*	.872	5	.275
KP	.222	5	.200*	.922	5	.543
P1	.196	5	.200*	.951	5	.747
P2	.291	5	.193	.895	5	.385
P3	.213	5	.200*	.912	5	.477

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

jumlah limfosit



Oneway

Test of Homogeneity of Variances

jumlah limfosit

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.083	4	20	.121

ANOVA

jumlah limfosit

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	50.222	4	12.556	6.274	.002
Within Groups	40.024	20	2.001		
Total	90.246	24			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah limfosit

LSD

(I) kelompok	(J) kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
KN	KP	4.26000*	.89470	.000	2.3937	6.1263
	P1	2.26000*	.89470	.020	.3937	4.1263
	P2	3.22000*	.89470	.002	1.3537	5.0863
	P3	2.02000*	.89470	.035	.1537	3.8863
KP	KN	-4.26000*	.89470	.000	-6.1263	-2.3937
	P1	-2.00000*	.89470	.037	-3.8663	-.1337
	P2	-1.04000	.89470	.259	-2.9063	.8263
	P3	-2.24000*	.89470	.021	-4.1063	-.3737
P1	KN	-2.26000*	.89470	.020	-4.1263	-.3937
	KP	2.00000*	.89470	.037	.1337	3.8663
	P2	.96000	.89470	.296	-.9063	2.8263
	P3	-.24000	.89470	.791	-2.1063	1.6263
P2	KN	-3.22000*	.89470	.002	-5.0863	-1.3537
	KP	1.04000	.89470	.259	-.8263	2.9063
	P1	-.96000	.89470	.296	-2.8263	.9063
	P3	-1.20000	.89470	.195	-3.0663	.6663
P3	KN	-2.02000*	.89470	.035	-3.8863	-.1537
	KP	2.24000*	.89470	.021	.3737	4.1063
	P1	.24000	.89470	.791	-1.6263	2.1063
	P2	1.20000	.89470	.195	-.6663	3.0663

*. The mean difference is significant at the .05 level.